api® 20 A

IVD

Système d'identification des bactéries anaérobies

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Le système API 20 A permet de rechercher rapidement et facilement 21 caractères pour l'identification biochimique des bactéries anaérobies. D'autres caractères tels que croissance en gélose profonde, aspect des colonies, morphologie cellulaire, coloration de Gram ... sont à rechercher et à intégrer dans la méthodologie utilisée pour pouvoir réaliser une identification complète. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API 20 A comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.
La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests)

- 25 galeries API 20 A
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API 20 A Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API 20 A est reportée dans le tableau de lecture de cette notice.

Milieu

API 20 A Medium 4 ml	Trypticase	5 g
	Extrait de levure	5 g
	Chlorure de sodium	2,5 g
	L-tryptophane	0,2 g
	L-cystine	0,4 g
	Hémine (origine porcine)	0,005 g
	Vitamine K_1	0,01 g
	Sulfite de sodium	0,1 g
	Eau démineralisée	qsp 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs / Instrumentation

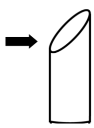
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Réactifs : BCP (Réf. 70 510)
  EHR (Réf. 70 520)
  XYL (Réf. 70 530)
- McFarland Standard (Réf. 70 900)
- Catalogue Analytique API 20 A (Réf. 20 390), logiciel d'identification **api*web* ™** (Réf. 40 011), automate ATB **™** ou ***mini API*** (consulter bioMérieux)
- Eau oxygénée sol. à 3 %

Matériel

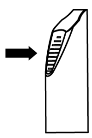
- Ecouvillons
- Pipettes ou PSIpettes
- Système d'anaérobiose
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoule
- Equipement général de laboratoire de bactériologie dont lampe UV (365 nm)

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, ...
- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :
  - Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
  - Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
  - Bien enfoncer le bouchon.



  * *Modèle 1 :*
    - Recouvrir la partie inclinée du bouchon avec la première phalange du pouce.
    - Exercer une pression avec le pouce à la base de la partie inclinée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.



  * *Modèle 2 :*
    - Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
  - Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.
  - Enlever délicatement le bouchon.

- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API 20 A ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.
Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir l'ampoule d'API 20 A Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation".
- A l'aide d'un écouvillon, prélever toutes les colonies obtenues sur gélose au sang en anaérobiose. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Bien vérifier la pureté de la souche (éventuellement, réaliser une subculture à partir d'une colonie bien isolée).
- Tenir l'ampoule verticalement et émulsifier les germes en frottant l'écouvillon par rotations contre la paroi de l'ampoule tout en restant dans le milieu de suspension. L'opacité finale doit être supérieure ou égale à celle de l'étalon 3 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément. Les bactéries à croissance lente peuvent nécessiter plusieurs boîtes de subculture pour obtenir l'inoculum de la densité requise.

  NOTE : Pour maintenir une certaine anaérobiose, il convient d'éviter l'introduction d'air lors de l'homogénéisation du milieu.

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl_2, CO_2 ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire les références des souches sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire les références sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation.)
- Sortir une galerie API 20 A de son emballage et la déposer dans la boîte d'incubation.
- A l'aide d'une pipette stérile, inoculer la galerie avec API 20 A Medium ensemencé, en évitant la formation de bulles et en inclinant légèrement la galerie.
  - Pour le test |GEL|, remplir tube et cupule.
  - Pour le test IND, remplir seulement le tube avec API 20 A Medium et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour éviter l'évaporation de l'indole formé.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber 24 heures (± 2 heures) à 36°C ± 2°C, en chambre anaérobie, en jarre ou en sachet individuel.
- Le surplus d'API 20 A Medium peut servir à vérifier la pureté et la viabilité de la souche, en inoculant une gélose profonde ou un jeu de 2 boîtes de milieu de culture, incubées l'une en aérobiose, l'autre en anaérobiose.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

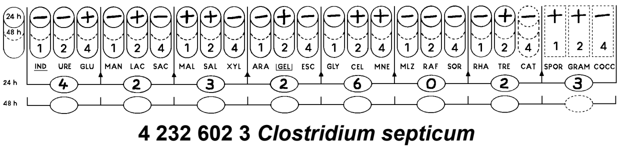
Beaucoup de bactéries anaérobies donnent en 24 heures une réponse claire et facile à interpréter, mais certaines souches ont une croissance lente et ne sont identifiables qu'après 48 heures d'incubation.

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (ne nécessitant pas l'addition de réactifs).
- Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
  - Le BCP du milieu réactionnel peut être décoloré par réduction. Dans ce cas, révéler la réaction d'acidification en ajoutant 1 goutte de réactif BCP dans tous les microtubes contenant des carbohydrates. Une couleur **jaune** ou **vert-jaune** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
  - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif XYL. Mélanger et attendre 2-3 minutes. Ajouter 1 goutte de réactif EHR. Le réactif doit rester à la surface du mélange xylène/huile de paraffine au niveau de la cupule (afin de ne pas diluer la coloration dans le microtube). Lire dans les 5 minutes qui suivent. Une couleur **rouge** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
  - Test CAT : La production de catalase est mise en évidence après 30 minutes d'exposition des galeries à l'air libre. Ajouter 2 gouttes de H_2O_2 à 3 % dans un tube positif. L'apparition de **bulles** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
  La fiche de résultats reproduit le dessin de la galerie API 20 A avec ses 20 tests, plus la réaction de la catalase et 3 tests de morphologie : SPOR pour spore (+, –), GRAM (+, –) et COCC pour coccus (+, –). Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 8 chiffres qui constituent le profil numérique.
- Identification :
  Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.0)
  * à l'aide du Catalogue Analytique :
    - Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
  * à l'aide de l'automate ATB ™, du ***mini API***, ou du logiciel d'identification **api*web* ™** :
    - Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 8 chiffres.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** de préférence ou l'une des souches suivantes :

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Ce résultat peut varier en fonction du milieu de culture utilisé.

Profils obtenus après 24 heures d'incubation après culture sur gélose Columbia au sang de mouton.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API 20 A est destiné à l'identification biochimique des bactéries anaérobies présentes dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice) et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

2968 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 89 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 5,8 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 5,2 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
				XYL - mélanger / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-tryptophane	0,98	formation d'INDole	jaune	rouge
URE	urée	0,648	UREase	jaune-orangé	rouge
				BCP	
GLU MAN LAC SAC MAL SAL XYL ARA	D-glucose D-mannitol D-lactose (origine bovine) D-saccharose D-maltose salicine D-xylose L-arabinose	1,96 1,96 1,96 1,86 1,96 1,64 1,64 1,64	acidification (GLUcose) acidification (MANnitol) acidification (LACtose) acidification (SACcharose) acidification (MALtose) acidification (SALicine) acidification (XYLose) acidification (ARAbinose)	pourpre	jaune / vert-jaune
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment (1)	diffusion du pigment noir (1)
ESC	esculine citrate de fer	0,36 0,11	hydrolyse (ß-glucosidase) (ESCuline)	jaune (2)	brun-noir (2)
				sous UV (365 nm)	
				fluorescence	pas de fluorescence
				BCP	
GLY CEL MNE MLZ RAF SOR RHA TRE	glycérol D-cellobiose D-mannose D-mélézitose D-raffinose D-sorbitol L-rhamnose D-tréhalose	1,82 1,86 1,96 1,96 2,18 2,18 1,96 1,96	acidification (GLYcérol) acidification (CELlobiose) acidification (ManNosE) acidification (MéLéZitose) acidification (RAFfinose) acidification (SORbitol) acidification (RHAmnose) acidification (TREhalose)	pourpre	jaune / vert-jaune
				Après 30 min à l'air libre H_2O_2 dans un tube positif	
CAT		–	CATalase	absence de bulles	présence de bulles
SPOR		–	spores	absence	présence
GRAM		–	coloration de Gram	rose	violet
COCC		–	morphologie	bacille	coque

(1) En incubation en jarre ronde, le pigment diffuse seulement dans la partie inférieure du tube.
(2) La coloration brun-noir se développe parfois seulement à l'air libre : en tenir compte pour la lecture.
La coloration noire peut être due à la formation de FeS, l'H_2S réagissant avec le citrate de fer. Une production faible est limitée à la partie inférieure du tube ; une production importante oblige à recourir à la lecture en lumière UV.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Imprimé en France

api® 20 A

IVD

System for the identification of anaerobes

SUMMARY AND EXPLANATION

The API 20 A system enables 21 tests to be carried out quickly and easily for the biochemical identification of anaerobes. Other tests such as colonial and microscopic morphology, Gram stain, etc. should be performed and the results used to confirm or complete the identification. The complete list of those organisms that it is possible to identify with this system is given in the Identification Table at the end of this package insert.

PRINCIPLE

The API 20 A strip consists of 20 microtubes containing dehydrated substrates. These tests are inoculated with a bacterial suspension which reconstitutes the media. During incubation, metabolism produces color changes that are either spontaneous or revealed by the addition of reagents.
The reactions are read according to the Reading Table and the identification is obtained by referring to the Analytical Profile Index or using the identification software.

CONTENT OF THE KIT (Kit for 25 tests)

- 25 API 20 A strips
- 25 incubation boxes
- 25 ampules of API 20 A Medium
- 25 result sheets
- 1 package insert

COMPOSITION

Strips

The composition of the API 20 A strip is given in the Reading Table of this package insert.

Medium

API 20 A Medium 4 ml	Trypticase	5 g
	Yeast extract	5 g
	Sodium chloride	2.5 g
	L-tryptophane	0.2 g
	L-cystine	0.4 g
	Hemin (porcine origin)	0.005 g
	Vitamin K_1	0.01 g
	Sodium sulfite	0.1 g
	Demineralized water	to make 1000 ml
	pH 6.9-7.3	

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents / Instrumentation

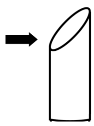
- Mineral oil (Ref. 70 100)
- Reagents : BCP (Ref. 70 510)
  EHR (Ref. 70 520)
  XYL (Ref. 70 530)
- McFarland Standard (Ref. 70 900)
- API 20 A Analytical Profile Index (Ref. 20 390), **api*web*** **TM** identification software (Ref. 40 011), ATB **TM** instrument or ***mini API*** (consult bioMérieux)
- Hydrogen peroxide (3 %)

Material

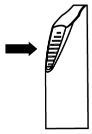
- Swabs
- Pipettes or PSIpettes
- Anaerobic atmosphere generator
- Ampule rack
- Ampule protector
- General microbiology laboratory equipment including Ultra violet lamp (365 nm)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use and microbiological control.**
- **For professional use only.**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- All specimens, microbial cultures and inoculated products should be considered infectious and handled appropriately. Aseptic technique and usual precautions for handling the bacterial group studied should be observed throughout this procedure. Refer to "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* - Current revision". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents past the expiry date.
- Before use, check that the packaging and components are intact.
- Do not use strips which have been damaged : cupules deformed, etc.
- Open ampules carefully as follows :
  - Place the ampule in the ampule protector.
  - Hold the protected ampule in one hand in a vertical position (white plastic cap uppermost).
  - Press the cap down as far as possible.



  * *Model 1 :*
    - Cover the flattened part of the cap with the upper part of the thumb.
    - Apply thumb pressure to the base of the flattened part of the cap to snap off the top of the ampule.



  * *Model 2 :*
    - Position the thumb tip on the striated part of the cap and press forward to snap off the top of the ampule.
  - Take the ampule out of the ampule protector and put the protector aside for subsequent use.
  - Carefully remove the cap.

- The performance data presented were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient history, the source of the specimen, colonial and microscopic morphology of the strain and, if necessary, the results of any other tests performed, particularly the antimicrobial susceptibility patterns.

STORAGE CONDITIONS

The strips and media should be stored at 2-8°C until the expiry date indicated on the packaging.

SPECIMENS (COLLECTION AND PREPARATION)

API 20 A is not for use directly with clinical or other specimens.
The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of the inoculum

- Open an ampule of API 20 A Medium as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions".
- Using a swab, harvest all the growth obtained on blood agar in anaerobic conditions. It is recommended to use young cultures (18-24 hours old). Check that the strain is pure. (If necessary, perform a subculture using a well-isolated colony).
- Hold the ampule upright and emulsify the organisms by rotating the swab and rubbing it against the side of the ampule without taking it out of the suspension medium. The final turbidity should be greater than or equal to 3 McFarland. This suspension must be used immediately after preparation. Slow growing organisms may require more than a single blood agar plate to achieve this inoculum density.
  NOTE : To maintain anaerobic conditions, avoid introducing air into the medium when homogenizing.

Preparation of the strip

- Prepare an incubation box (tray and lid) and distribute about 5 ml of distilled water or demineralized water [or any water without additives or chemicals which may release gases (e.g. Cl_2, CO_2, etc.)] into the honeycombed wells of the tray to create a humid atmosphere.
- Record the strain references on the elongated flap of the tray. (Do not record the references on the lid as it may be misplaced during the procedure.)
- Remove an API 20 A strip from its packaging and place it in the incubation tray.
- Using a sterile pipette, inoculate the strip with the suspension in the ampule of API 20 A Medium, avoiding the formation of bubbles and tilting the strip slightly forwards.
  - For the |GEL| test, fill both the tube and cupule.
  - For the IND test, fill just the tube with API 20 A Medium and fill the cupule with mineral oil to prevent the indole from evaporating.
- Place the lid on the tray and incubate for 24 hours (± 2 hours) at 36°C ± 2°C in an anaerobic chamber, jar or bag.
- The surplus API 20 A Medium can be used to check the purity and viability of the strain, by inoculating a set of 2 culture medium plates (one inoculated aerobically and the other anaerobically).

READING AND INTERPRETATION

Reading the strip

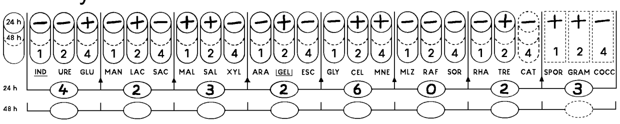
Many anaerobic bacteria produce reactions which are clear and easy to read within 24 hours, but some strains grow slowly and can only be identified after 48 hours of incubation.

- After incubation, read the strip by referring to the Reading Table.
- Record all spontaneous reactions (those not requiring the addition of reagents) on the result sheet.
- Reveal the tests which require the addition of reagents :
  - The BCP present in the reaction medium may be discolored by reduction. In this case, reveal the acidification reaction by adding 1 drop of BCP reagent to all microtubes containing carbohydrates. A **yellow** or **yellow-green** color indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet.
  - IND test : add 1 drop of XYL reagent to the mineral oil overlay. Mix using an applicator stick and leave for 2-3 minutes. Add 1 drop of EHR reagent. The reagent should float on the xylene/mineral oil (so as not to dilute the color in the microtube). Read within 5 minutes. A **red** color indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet.
  - CAT test : Catalase production is determined after strips have been exposed to air for 30 minutes. Add 2 drops of 3 % H_2O_2 to a positive reaction microtube. The appearance of **bubbles** indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet.

Interpretation

Identification is obtained with the **numerical profile**.

- Determination of the numerical profile :
  The result sheet reproduces the outline of the API 20 A strip with its 20 tests, plus the catalase reaction and 3 morphological characteristics : SPOR for spore (+, –), GRAM (+, –) and COCC for coccus (+, –). On the result sheet, the tests are separated into groups of 3 and a value of 1, 2 or 4 is indicated for each. By adding together the values corresponding to positive reactions within each group, an 8-digit profile number is obtained.
- Identification :
  This is performed using the database (V4.0)
  * with the Analytical Profile Index :
    - Look up the numerical profile in the list of profiles.
  * with the ATB ™ instrument, ***mini API***, or **api*web* ™** identification software :
    - Enter the 8-digit numerical profile manually via the keyboard.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

QUALITY CONTROL

The strips, media and reagents are systematically controlled at various stages of their manufacture. For those users who wish to perform their own quality control tests with the strip, it is preferable to use the strain **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** or else one of the following strains :

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483
3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* This result may vary depending on the culture medium used.

Profiles obtained after 24 hours of incubation after culture on Columbia sheep blood agar.

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The API 20 A system is intended uniquely for the biochemical identification of those anaerobic bacteria included in the database (see Identification Table at the end of this package insert). It cannot be used to identify any other organisms or to exclude their presence.
- Only pure cultures of a single organism should be used.

RANGE OF EXPECTED RESULTS

Consult the Identification Table at the end of this package insert for the range of expected results for the various biochemical reactions.

PERFORMANCE

2968 collection strains and strains of various origins belonging to species included in the database were tested :

- 89 % of the strains were correctly identified (with or without supplementary tests).
- 5.8 % of the strains were not identified.
- 5.2 % of the strains were misidentified.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABLITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

READING TABLE

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
IND	L-tryptophane	0.98	INDole formation	XYL - mix / 2-3 min + EHR / 5 min yellow	red
URE	urea	0.648	UREase	yellow-orange	red
				BCP	
GLU	D-glucose	1.96	acidification (GLUcose)	purple	yellow / yellow-green
MAN	D-mannitol	1.96	acidification (MANnitol)		
LAC	D-lactose (bovine origin)	1.96	acidification (LACtose)		
SAC	D-saccharose (sucrose)	1.86	acidification (SACcharose)		
MAL	D-maltose	1.96	acidification (MALtose)		
SAL	salicin	1.64	acidification (SALicin)		
XYL	D-xylose	1.64	acidification (XYLose)		
ARA	L-arabinose	1.64	acidification (ARAbinose)		
|GEL|	gelatin (bovine origin)	0.6	hydrolysis (protease) (GELatin)	no diffusion of pigment (1)	diffusion of black pigment (1)
ESC	esculin ferric citrate	0.36 0.11	hydrolysis (ß-glucosidase) (ESCulin)	yellow (2) in UV (365 nm) fluorescence	brown-black (2) no fluorescence
				BCP	
GLY	glycerol	1.82	acidification (GLYcerol)	purple	yellow / yellow-green
CEL	D-cellobiose	1.86	acidification (CELlobiose)		
MNE	D-mannose	1.96	acidification (ManNosE)		
MLZ	D-melezitose	1.96	acidification (MeLeZitose)		
RAF	D-raffinose	2.18	acidification (RAFfinose)		
SOR	D-sorbitol	2.18	acidification (SORbitol)		
RHA	L-rhamnose	1.96	acidification (RHAmnose)		
TRE	D-trehalose	1.96	acidification (TREhalose)		
CAT		–	CATalase	After 30 min in air H_2O_2 in a positive tube no bubbles	bubbles
SPOR		–	spores	absent	present
GRAM		–	Gram reaction	pink	violet
COCC		–	morphology	rod	coccus

(1) With incubation in a round jar, the pigment only diffuses in the lower part of the tube.
(2) The brown-black color sometimes only develops after the strip has been exposed to air : this should be taken into consideration when reading.
A black color may be due to the formation of ferric sulphide (FeS) due to H_2S reacting with the ferric citrate. This does not indicate esculin hydrolysis. The two may be distinguished by the fact that the ferric sulphide forms a black precipitate at the base of the tube whereas esculin hydrolysis results in a brown-black area at the top of the tube. If the tube is completely black, and in case of doubt, the test should be read by examining for fluorescence in UV light.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.
- Certain cupules contain products of animal origin, notably peptones.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Printed in France

api® 20 A

IVD

System zur Identifizierung von Anaerobiern

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

API 20 A ist ein System zur schnellen und einfachen Identifizierung von anaeroben Bakterien anhand von 21 biochemischen Reaktionen. Zusätzliche Merkmale wie Wachstum in Stichkultur, Kolonie- und Zellmorphologie, Gramfärbung... müssen für die endgültige Identifizierung berücksichtigt und integriert werden. Die komplette Liste der mit dem System zu identifizierenden Mikroorganismen finden Sie in der Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung.

PRINZIP

Der API 20 A Streifen besteht aus 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten. Die Röhrchen werden mit einer Keimsuspension beimpft, welche die Substrate löst. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken Farbumschläge, entweder direkt oder nach Zugabe der Reagenzien.
Die Ablesung der Reaktionen erfolgt anhand der Ablesetabelle, die Identifizierung mit dem Analytischen Profil Index oder einer Identifizierungssoftware

PACKUNGSGRÖSSE (25 Tests)

- 25 API 20 A Streifen
- 25 Inkubationswannen
- 25 Ampullen API 20 A Medium
- 25 Ergebnisblätter
- 1 Arbeitsanleitung

ZUSAMMENSETZUNG

Streifen

Die Zusammensetzung des API 20 A Streifens finden Sie in der Ablesetabelle dieser Arbeitsanleitung.

Medium

API 20 A Medium 4 ml	Trypticase	5 g
	Hefeextrakt	5 g
	Natriumchlorid	2,5 g
	L-Tryptophan	0,2 g
	L-Cystin	0,4 g
	Hämin (Schwein)	0,005 g
	Vitamin K_1	0,01 g
	Natriumsulfit	0,1 g
	Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Reagenzien / Geräte

- Paraffinöl (Best.Nr. 70 100)
- Reagenzien: BCP (Best.Nr. 70 510)
  EHR (Best.Nr. 70 520)
  XYL (Best.Nr. 70 530)
- McFarland Standard (Best.Nr. 70 900)
- Analytischer Profil Index API 20 A (Best.Nr. 20 390)
  api*web* ™ Identifizierungssoftware (Best.Nr. 40 011), ATB™ oder ***mini API*** Gerät (bei bioMérieux anfragen)
- Wasserstoffperoxid (3 %) oder ID Color Catalase (Best.Nr. 55 561)

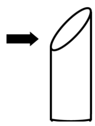
Materialien

- Wattetupfer
- Pipetten oder PSIpetten
- System zur Herstellung anaerober Atmosphäre
- Ampullenständer
- Schutzhülle für Ampullen
- Allgemeine mikrobiologische Laborausrüstung und UV Lampe (365 nm)

VORSICHTSMASSNAHMEN

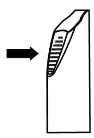
- **Für die *in vitro* Diagnostik und die mikrobiologische Kontrolle.**
- **Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.**
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Die Proben, Mikroorganismen und beimpften Produkte müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung müssen aseptische Arbeitsbedingungen und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen für die zu untersuchende Keimgruppe eingehalten werden, siehe „CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – aktuelle Revision". Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – aktuelle Ausgabe" oder in den jeweils gültigen Richtlinien.
- Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Vergewissern Sie sich vor Gebrauch, dass die Verpackung und die verschiedenen Bestandteile nicht beschädigt sind.
- Streifen mit äußeren Anzeichen einer Beschädigung (deformierte Vertiefungen etc.) nicht verwenden.
- Öffnen Sie die Ampullen wie folgt vorsichtig:
  - Stecken Sie die Ampulle in die Schutzhülle der Ampulle.
  - Halten Sie die Ampulle in der Schutzhülle senkrecht (weiße Verschlusskappe nach oben).
  - Pressen Sie die Verschlusskappe so weit wie möglich nach unten.

    ** Modell 1:*



    - Legen Sie Ihren Daumen auf die schräge Fläche der Verschlusskappe.
    - Drücken Sie mit dem Daumen gegen den unteren Bereich der schrägen Fläche, bis die Ampullenspitze abbricht.

    ** Modell 2:*



    - Drücken Sie mit dem Daumen gegen den gestrichelten Bereich der Verschlusskappe, bis die Ampullenspitze abbricht.
  - Nehmen Sie die Ampulle aus der Schutzhülle und bewahren Sie die Schutzhülle für einen späteren Gebrauch auf.
  - Entfernen Sie vorsichtig die Verschlusskappe.

- Die angegebene Performance wurde gemäß dem Verfahren der vorliegenden Arbeitsanleitung ermittelt. Jede Abweichung von diesem Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen der klinische Hintergrund oder andere Zusammenhänge, die Probenherkunft, Kolonie- und mikroskopische Morphologie des Stammes sowie gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Tests, insbesondere das Antibiogramm, berücksichtigt werden.

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

Die Streifen und Medien sind bei 2-8°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN (ENTNAHME UND VORBEREITUNG)

API 20 A darf nicht zur direkten Testung von klinischen oder anderen Untersuchungsmaterialien verwendet werden.
Die zu identifizierenden Mikroorganismen müssen zuerst gemäß den üblichen mikrobiologischen Verfahren auf einem geeigneten Kulturmedium isoliert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Vorbereitung des Inokulums

- Öffnen Sie eine Ampulle API 20 A Medium, wie im Abschnitt „Vorsichtsmaßnahmen" beschrieben.
- Nehmen Sie mit einem Wattetupfer alle Kolonien auf, die auf Blutagar unter anaeroben Bedingungen gewachsen sind. Verwenden Sie vorzugsweise junge Kulturen (18-24 Stunden). Überprüfen Sie die Reinheit der Kultur (gegebenenfalls durch Subkultivierung einer Einzelkolonie).
- Emulgieren Sie die Kolonien im Medium: Halten Sie die Ampulle senkrecht und drücken Sie den Wattetupfer durch mehrfaches Drehen an der Ampullenwand aus, ohne dabei den Wattetupfer aus dem Suspensionsmedium zu nehmen. Die Trübung der Suspension sollte ≥ McFarland Standard 3 sein. Die Suspension muss sofort verwendet werden. Langsam wachsende Bakterien benötigen für das erforderliche Inokulum gegebenenfalls mehrere Subkulturplatten.

  ANMERKUNG: Um anaerobe Bedingungen aufrecht zu erhalten, genügt es darauf zu achten, dass beim Homogenisieren keine Luft ins Medium gelangt.

Vorbereitung des Streifens

- Stellen Sie eine Inkubationswanne mit Deckel bereit und geben Sie zur Herstellung einer feuchten Kammer ca. 5 ml destilliertes oder demineralisiertes Wasser [oder anderes Wasser ohne Zusätze bzw. Derivate, die Gase freisetzen können (z.B. Cl_2, CO_2...)] in die Wanne.
- Notieren Sie die Referenznummer des Stammes auf dem dafür vorgesehenen seitlichen Abschnitt der Inkubationswanne. (Die Referenznummer nicht auf dem Deckel notieren, da er während des Arbeitsablaufes verwechselt werden oder abhanden kommen kann).
- Nehmen Sie einen API 20 A Streifen aus der Verpackung und legen Sie ihn in die Inkubationswanne.
- Beimpfen Sie den Streifen mit einer sterilen Pipette mit dem beimpften API 20 A Medium. Halten Sie den Streifen dabei leicht schräg, um Blasenbildung zu vermeiden.
  - Füllen Sie für den |GEL| Test Röhrchen und Becher.
  - Für den IND Test nur das Röhrchen mit dem API 20 A Medium füllen und den Becher mit Paraffinöl überschichten, um ein Entweichen des gebildeten Indols zu vermeiden.
- Legen Sie den Deckel auf den Streifen und inkubieren Sie für 24 h (± 2 h) bei 36°C ± 2°C in anaerober Atmosphäre (Anaerobierkammer, Anaerobiertopf oder Einzelbeutel).
- Das restliche API 20 A Medium kann zur Überprüfung der Reinheit und Lebensfähigkeit des Stammes verwendet werden. Beimpfen Sie hierfür einen Schrägagar oder 2 Petrischalen, von denen eine aerob, die andere anaerob inkubiert wird.

ABLESUNG UND INTERPRETATION

Ablesung des Streifens

Viele anaerobe Bakterien zeigen innerhalb von 24 h deutliche, leicht zu interpretierende Reaktionen, einige Stämme wachsen jedoch langsam und können erst nach 48-stündiger Inkubation identifiziert werden.

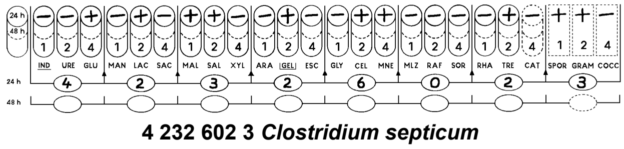
- Lesen Sie nach der Inkubation den Streifen mit Hilfe der Ablesetabelle ab.
- Notieren Sie alle Spontanreaktionen (ohne Reagenzzugaben) auf dem Ergebnisblatt.
- Prüfen Sie anschließend die Tests, die Reagenzzugaben erfordern:
  - BCP: Das BCP des Reaktionsmediums kann durch Reduktion entfärbt werden. Weisen Sie die Säurebildung durch Zugabe 1 Tropfens BCP Reagenz in alle Röhrchen mit Kohlenhydraten nach. Eine **gelbe** oder **grün-gelbe** Farbe zeigt eine **positive** Reaktion an. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt.
  - IND: Geben Sie 1 Tropfen XYL Reagenz zu. Mischen und 2-3 min warten. Geben Sie 1 Tropfen EHR Reagenz zu. Das Reagenz sollte auf der Oberfläche der Xylen/Paraffinöl-Mischung bleiben, damit das Farbreagenz nicht im Röhrchen verdünnt wird. Lesen Sie innerhalb der folgenden 5 min ab. Eine **rote** Farbe zeigt ein **positives** Ergebnis an. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt.
  - CAT: Die Katalase-Bildung wird nach 30-minütiger Exposition des Streifens an der Luft nachgewiesen. Geben Sie 2 Tropfen H_2O_2 3 % in ein positives Röhrchen. **Blasenbildung** zeigt eine **positive** Reaktion an. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt.

Interpretation

Die Identifizierung erfolgt anhand des **numerischen Profils**.

- Erstellung des numerischen Profils:
  Die Tests auf dem Ergebnisblatt sind wie der API 20 A Streifen aufgeteilt, dazu kommen die Katalasereaktion und die 3 morphologischen Charakteristika: SPOR für Sporenbildung (+, –), GRAM (+, –) und COCC für Kokken (+, –). Die biochemischen Reaktionen auf dem Ergebnisblatt sind in 3-er Gruppen eingeteilt. Jede positive Reaktion erhält den Wert 1, 2 oder 4 je nach Position des Tests innerhalb der Gruppe (1., 2. oder 3. Test). Die Zahlenwerte jeder Gruppe werden addiert (negative Reaktion = 0), so erhält man 8 Ziffern, welche das numerische Profil ergeben.
- Identifizierung:
  Die Identifizierung erfolgt anhand der Datenbasis (V4.0)
  * mit dem Analytischen Profil Index:
  - Schlagen Sie das numerische Profil in der Profilliste nach.

  * mit dem ATB™ System, dem ***mini API*** oder der **api*web*™** Identifizierungssoftware:
  - Geben Sie das 8-stellige numerische Profil über die Tastatur ein.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Medien, Streifen und Reagenzien unterliegen in den verschiedenen Stadien der Produktion systematisch durchgeführten Qualitätskontrollen. Die mikrobiologische Qualitätskontrolle der API-Teststreifen im Labor kann vorzugsweise mit dem **1.** Stamm ***Clostridium perfringens*** **ATCC® 13124** oder einem der folgenden Stämme durchgeführt werden:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Dieses Ergebnis kann dem verwendeten Kulturmedium entsprechend variieren.

Profile nach 24 h Inkubation (Anzucht auf Columbia-Agar mit Schafblut).

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

- API 20 A dient nur zur biochemischen Identifizierung der in der Datenbasis enthaltenen anaeroben Bakterien (siehe Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung). Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden.
- Es dürfen nur Reinkulturen verwendet werden.

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die erwarteten Ergebnisse der verschiedenen biochemischen Reaktionen entnehmen Sie der Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung.

PERFORMANCE

2968 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:

- 89 % der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
- 5,8 % der Stämme wurden nicht identifiziert.
- 5,2 % der Stämme wurden falsch identifiziert.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Entsorgen Sie alle gebrauchten und nicht gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.
Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Fest- und Flüssigabfälle gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

ABLESETABELLE

TESTS	AKTIVE BESTANDTEILE	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN/ENZYME	ERGEBNISSE NEGATIV	ERGEBNISSE POSITIV
				XYL - mischen / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-Tryptophan	0,98	INDol-Bildung	gelb	rot
URE	Harnstoff	0,648	UREase	gelb-orange	rot
				BCP	
GLU	D-Glukose	1,96	Säurebildung (GLUkose)	purpur	gelb / grün-gelb
MAN	D-Mannit	1,96	Säurebildung (MANnit)	purpur	gelb / grün-gelb
LAC	D-Laktose (Rind)	1,96	Säurebildung (LACtose)	purpur	gelb / grün-gelb
SAC	D-Saccharose	1,86	Säurebildung (SACcharose)	purpur	gelb / grün-gelb
MAL	D-Maltose	1,96	Säurebildung (MALtose)	purpur	gelb / grün-gelb
SAL	Salizin	1,64	Säurebildung (SALicin)	purpur	gelb / grün-gelb
XYL	D-Xylose	1,64	Säurebildung (XYLose)	purpur	gelb / grün-gelb
ARA	L-Arabinose	1,64	Säurebildung (ARAbinose)	purpur	gelb / grün-gelb
|GEL|	Gelatine (Rind)	0,6	Hydrolyse (Protease) (GELatine)	keine Diffusion des Pigments (1)	Diffusion der schwarzen Tusche (1)
ESC	Äsculin Eisencitrat	0,36 0,11	Hydrolyse (ß-Glukosidase) (ESCulin)	gelb (2)	braun-schwarz (2)
				unter UV (365 nm)	
				Fluoreszenz	keine Fluoreszenz
				BCP	
GLY	Glyzerin	1,82	Säurebildung (GLYzerin)	purpur	gelb / grün-gelb
CEL	D-Cellobiose	1,86	Säurebildung (CELlobiose)	purpur	gelb / grün-gelb
MNE	D-Mannose	1,96	Säurebildung (ManNosE)	purpur	gelb / grün-gelb
MLZ	D-Melezitose	1,96	Säurebildung (MeLeZitose)	purpur	gelb / grün-gelb
RAF	D-Raffinose	2,18	Säurebildung (RAFfinose)	purpur	gelb / grün-gelb
SOR	D-Sorbit	2,18	Säurebildung (SORbit)	purpur	gelb / grün-gelb
RHA	L-Rhamnose	1,96	Säurebildung (RHAmnose)	purpur	gelb / grün-gelb
TRE	D-Trehalose	1,96	Säurebildung (TREhalose)	purpur	gelb / grün-gelb
				nach 30 min an der Luft H_2O_2 in ein positives Röhrchen	
CAT		–	CATalase	keine Blasenbildung	Blasenbildung
SPOR		–	Sporen	Abwesenheit	Anwesenheit
GRAM		–	Gramfärbung	rosa	violett
COCC		–	Morphologie	Stäbchen	Kokken

(1) Bei einer Inkubation im runden Anaerobiertopf diffundiert die Tusche nur im unteren Teil des Röhrchens.
(2) Die braun-schwarze Farbe entwickelt sich oft erst an der Luft, dies muss bei der Ablesung berücksichtigt werden.
Das API 20 A Medium enthält verschiedene Schwefelbestandteile. Einige Keime bauen sie ab und produzieren H_2S, das mit dem Eisencitrat unter Bildung eines schwarzen FeS-Präzipitats reagiert. Im Falle einer Schwarzfärbung des ganzen Röhrchens muss die Äskulinhydrolyse mit der UV-Lampe abgelesen werden.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.
- Einige Näpfchen enthalten Bestandteile tierischen Ursprungs, vor allem Peptone.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Gedruckt in Frankreich

REF **20 300** 07882**G** - ES - 2006/02

api® 20 A

IVD

Sistema de identificación de bacterias anaerobias

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO

El sistema API 20 A permite estudiar rápida y fácilmente 21 caracteres destinados a la identificación bioquímica de las bacterias anaerobias. Otros caracteres, tales como el crecimiento en agar en profundidad, aspecto de las colonias, morfología celular y coloración Gram, deben ser determinados e integrados en la metodología que se emplea para una completa identificación. La lista completa de las bacterias que es posible identificar por el sistema está indicada en la Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica.

PRINCIPIO

La galería API 20 A incluye 20 microtubos que contienen substratos deshidratados. Los microtubos se inoculan con una suspensión bacteriana que reconstituye los medios. Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen en cambios de color, bien espontáneos o bien provocados mediante la adición de reactivos.
La interpretación de estas reacciones se realiza con la ayuda de la Tabla de Identificación, y el reconocimiento se consigue mediante un software de identificación.

PRESENTACIÓN (caja de 25 tests)

- 25 galerías API 20 A
- 25 cámaras de incubación
- 25 ampollas de API 20 A Medium
- 25 hojas de resultados
- 1 ficha técnica

COMPOSICIÓN

Galería

La composición de la galería API 20 A puede verse en la Tabla de Identificación de la presente ficha técnica.

Medio

API 20 A Medium 4 ml	Tripticasa	5 g
	Extracto de levadura	5 g
	Cloruro sódico	2,5 g
	L-triptofano	0,2 g
	L-cistina	0,4 g
	Hemina (origen porcino)	0,005 g
	Vitamina K_1	0,01 g
	Sulfito sódico	0,1 g
	Agua desmineralizada	csp 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos / Instrumentación

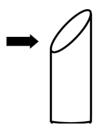
- Aceite de parafina (ref. 70 100)
- Reactivos: BCP (ref. 70 510)
  EHR (ref. 70 520)
  XYL (ref. 70 530)
- McFarland Standard (ref. 70 900)
- Catálogo Analítico API 20 A (Ref. 20 390), programa de identificación **apiweb ™** (Ref. 40 011), sistema ATB **™** o ***mini API*** (consultar con bioMérieux)
- Agua oxigenada sol. al 3% de concentración

Material

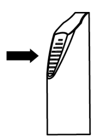
- Escobillones
- Pipetas o PSIpettes
- Sistema generador de anaerobiosis
- Gradillas para ampollas
- Protege-ampolla
- Equipo general de laboratorio de bacteriología incluyendo lámpara UV (365 nm)

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Para diagnóstico *in vitro* y control microbiológico.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir, ni inhalar).
- Todas las muestras, cultivos bacterianos y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y ser manipulados de manera apropiada. Durante toda la manipulación, deben respetarse las normas de asépsia y tomar las precauciones habituales de manipulación para el grupo de bacterias estudiadas; consultar: "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – Revisión en vigor". Para información complementaria sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories,* CDC/NIH – Última edición", o la reglamentación vigente en el país de utilización.
- No emplear los reactivos después de su fecha de caducidad.
- Antes de su utilización, verificar la integridad del envase y de sus componentes.
- No utilizar galerías que hayan sufrido una alteración física: cúpula deformada, ...
- Abrir las ampollas con cuidado del modo siguiente:
  - Introducir la ampolla en el protege-ampolla.
  - Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
  - Presionar a fondo el tapón.



** Modelo 1 :*
  - Cubrir la parte inclinada del tapón con la primera falange del pulgar.
  - Ejercer una presión con el pulgar en la base de la parte inclinada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.



** Modelo 2 :*
  - Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
  - Retirar la ampolla del protege-ampolla y conservarlo para un próximo uso.
  - Retirar el tapón con delicadeza.

- Las prestaciones indicadas han sido obtenidas mediante la metodología expresada en la presente ficha técnica. Toda desviación de dicha metodología puede alterar los resultados.
- La interpretación de los resultados del test debe ser realizada teniendo en cuenta un contexto clínico o de otro tipo, el origen de las muestras, los aspectos macro y microscópicos de la colonia y, eventualmente, los resultados de otros tests, particularmente del antibiograma.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las galerías y los medios se conservan a 2-8ºC hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

MUESTRAS (RECOGIDA Y PREPARACIÓN)

La galería API 20 A no debe ser utilizada directamente a partir de muestras de origen clínico o de otro tipo.
En una primera fase, los microorganismos a identificar deben aislarse en una primera fase sobre un medio de cultivo apropiado, según las técnicas usuales en bacteriología.

MODO DE EMPLEO

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de API 20 A Medium como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización".
- Con la ayuda de un escobillón, extraer todas las colonias obtenidas sobre el agar de sangre en anaerobiosis. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas). Verificar bien la pureza de la cepa (eventualmente realizar un subcultivo a partir de una colonia bien aislada).
- Sostener la ampolla verticalmente y emulsificar los gérmenes frotando el escobillón mediante rotaciones contra la pared de la ampolla mientras se mantiene dentro del medio de suspensión.
  La turbidez final debe ser superior o igual a 3 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada de inmediato. Las bacterias de crecimiento lento pueden necesitar varias placas de agar de sangre para subcultivar y así obtener un inóculo de la densidad necesaria.

NOTA: Para mantener una cierta anaerobiosis, conviene evitar la introducción de aire durante la homogeneización del medio.

Preparación de la galería

- Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles a liberar gases (Ej. Cl_2, CO_2 ...)] en los alveólos para crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir las referencias sobre la tapa, ya que ésta puede extraviarse durante la manipulación).
- Sacar una galería API 20 A de su envase y depositarla en la cámara de incubación.
- Con la ayuda de una pipeta estéril, inocular la galería con la suspensión API 20 A Medium preparada, evitando la formación de burbujas al inclinar ligeramente la galería.
  - Para el test |GEL|, llenar el tubo y la cúpula.
  - Para el test IND, rellenar solamente el tubo con API 20 A Medium y llenar la cúpula con aceite de parafina, para evitar la evaporación del índol formado.
- Cerrar la cámara de incubación y cultivar durante 24 horas (± 2 horas) a 36ºC ± 2ºC en cámara anaerobia, en tarro o en bolsa individual.
- El resto de API 20 A Medium puede servir para verificar la pureza y la viabilidad de la cepa, inoculando un agar en profundidad o un juego de 2 placas de medio de cultivo, incubando una en aerobiosis y la otra en anaerobiosis.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Lectura de la galería

Muchas de las bacterias anaerobias generan una respuesta clara y fácil de interpretar en 24 horas pero ciertas cepas de crecimiento lento sólo se pueden identificar tras 48 horas de incubación.

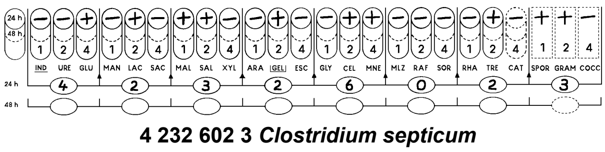
- Después de la incubación, la lectura de la galería debe realizarse con referencia a la Tabla de Identificación.
- Anotar en la hoja de resultados todas las reacciones espontáneas (que no necesiten la adición de reactivos).
- Realizar los ensayos que precisen la adición de reactivos :
  - El BCP del medio de reacción puede resultar descolorido por reducción. En este caso, llevar a cabo la reacción de acidificación al agregar 1 gota del reactivo BCP en todos los microtubos que contengan carbohidrato. Una coloración **amarilla** o **verde-amarillenta** indica una reacción **positiva** que debe anotarse en la hoja de resultados.
  - Prueba IND : agregar 1 gota del reactivo XYL. Mezclar y esperar 2-3 minutos. Agregar 1 gota del reactivo EHR. El reactivo debe permanecer en la superficie de la mezcla xileno/aceite de parafina al nivel de la cúpula (para no diluir la coloración en el microtubo). Leer durante los siguientes 5 minutos. Un color **rojo** indica una reacción **positiva** que debe anotarse en la hoja de resultados.
  - Prueba CAT : La producción de catalasa se hace evidente después de exponer la galería al aire libre durante 30 minutos. Agregar 2 gotas de H_2O_2 al 3 % en el tubo positivo. La aparición de **burbujas** indica una reacción **positiva** que debe anotarse en la hoja de resultados.

Interpretación

La identificación se obtiene a partir del **perfil numérico:**

- Determinación del perfil numérico:
  La hoja de resultados reproduce el diseño de la galería API 20 A con sus 20 ensayos, más la reacción de la catalasa y 3 ensayos de morfología: SPOR para esporas (+, –), GRAM (+, –) y COCC para cocos (+, –).
  En la hoja de resultados, los tests están separados en grupos de tres y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando al interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 8 cifras que constituyen el perfil numérico.
- Identificación:
  Se realiza a partir de la base de datos (V4.0)
  * Con la ayuda del Catálogo Analítico:
  - Localizar el perfil numérico en la lista de los perfiles.

  * Con la ayuda del sistema ATB **™**, ***mini API***, o del programa de identificación **api*web*** **™**:
  - Introducir manualmente mediante el teclado el perfil numérico de 8 cifras.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

CONTROL DE CALIDAD

Los medios, galerías y reactivos son objeto de controles de calidad sistemáticos durante las diferentes etapas de su fabricación. El usuario puede realizar además un control bacteriológico de los tests de la galería, mediante la cepa **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** con preferencia sobre una de las siguientes cepas :

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Este resultado puede variar en función del medio de cultivo utilizado.

Perfiles obtenidas después de 24 horas de incubación mediante cultivo sobre Agar Columbia con sangre de carnero.

El usuario es responsable de asegurarse de que el control de calidad ha sido realizado conforme a la legislación local vigente.

LÍMITES DEL ENSAYO

- El sistema API 20 A está destinado a la identificación bioquímica de las bacterias anaerobias presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica), y exclusivamente a ellas. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Sólo se deben utilizar cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar la Tabla de Identificación que se incluye al final de esta ficha técnica para aclarar los resultados esperados en las diferentes reacciones bioquímicas.

PRESTACIONES

Han sido ensayadas 2968 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 89 % de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios).
- 5,8 % de las cepas no han sido identificadas.
- 5,2 % de las cepas se han identificado incorrectamente.

ELIMINACION DE LOS DESECHOS

Eliminar los reactivos utilizados o no utilizados, así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce, según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables.

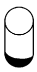
TABLA DE IDENTIFICACIÓN

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	QTE (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS NEGATIVO	RESULTADOS POSITIVO
				XYL - mezclar / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-triptofano	0,98	formación de INDole	amarillo	rojo
URE	urea	0,648	UREasa	amarillo-anaranjado	rojo
				BCP	
GLU	D-glucosa	1,96	acidificación (GLUcosa)	púrpura	amarillo / verde-amarillento
MAN	D-manitol	1,96	acidificación (MANitol)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,96	acidificación (LACtosa)		
SAC	D-sacarosa	1,86	acidificación (SACarosa)		
MAL	D-maltosa	1,96	acidificación (MALtosa)		
SAL	salicina	1,64	acidificación (SALicina)		
XYL	D-xilosa	1,64	acidificación (XYLosa)		
ARA	L-arabinosa	1,64	acidificación (ARAbinosa)		
GEL	gelatina (origen bovino)	0,6	hidrólisis (proteasa) (GELatina)	sin difusión del pigmento (1)	Difusión del pigmento negro (1)
ESC	esculina citrato férrico	0,36 0,11	hidrólisis (ß-glucosidasa) (ESCulina)	amarillo (2)	marrón-negro (2)
				bajo rayos UV (365 nm)	
				fluorescencia	sin fluorescencia
				BCP	
GLY	glicerol	1,82	acidificación (GLYcerol)	púrpura	amarillo / verde-amarillento
CEL	D-celobiosa	1,86	acidificación (CELobiosa)		
MNE	D-manosa	1,96	acidificación (MaNosE)		
MLZ	D-melecitosa	1,96	acidificación (MeLeZitosa)		
RAF	D-rafinosa	2,18	acidificación (RAFinosa)		
SOR	D-sorbitol	2,18	acidificación (SORbitol)		
RHA	L-rhamnosa	1,96	acidificación (RHAmnosa)		
TRE	D-trehalosa	1,96	acidificación (TREhalosa)		
				Después de 30 min al aire libre H_2O_2 en un tubo positivo	
CAT		–	CATalasa	ausencia de burbujas	presencia de burbujas
SPOR		–	esporas	ausencia	presencia
GRAM		–	coloración de Gram	rosa	violeta
COCC		–	morfología	bacilo	coccus

(1) Durante su incubación en frasco redondo, el pigmento se difunde solamente en la parte inferior del tubo.
(2) La coloración marrón-negra solamente se desarrolla a veces al aire libre : tenerlo en cuenta para la identificación.
La coloración negra puede deberse a la formación de SFe, formado por reacción del SH_2 con el citrato de hierro. Su producción es débil y se limita a la parte inferior del tubo ; si su producción fuera más importante, nos veríamos obligados a recurrir a la identificación mediante luz UV.


ESC +
SH_2 –


ESC – / +
SH_2 – / +


ESC –
SH_2 +

- Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptonas.

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Impreso en Francia

api® 20 A

IVD

Sistema di identificazione di batteri anaerobi

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

La galleria API 20 A consente la ricerca rapida di 21 caratteri biochimici per l'identificazione dei batteri anaerobi. Altri caratteri come la crescita in profondità nell'agar, l'aspetto delle colonie, la morfologia cellulare, la colorazione di Gram ... devono essere ricercati e integrati nella metodologia utilizzata per poter eseguire un'identificazione completa. La lista completa dei batteri che possono essere identificati con questa galleria è contenuta nella Tabella d'Identificazione alla fine della presente scheda tecnica.

PRINCIPIO

La galleria API 20 A è costituita da 20 microprovette contenenti dei substrati disidratati. Le microprovette sono inoculate con una sospensione batterica che ricostituisce i substrati. Le reazioni prodotte durante il periodo di incubazione sono evidenziate da viraggi di colore spontanei o conseguenti all'aggiunta di reattivi.
La lettura di queste reazioni viene fatta con l'aiuto di una Tabella di Lettura e l'identificazione viene effettuata consultando l'Indice Analitico API 20 A o servendosi del software d'identificazione.

PRESENTAZIONE (confezione da 25 test)

- 25 gallerie API 20 A
- 25 vaschette di incubazione
- 25 fiale di API 20 A Medium
- 25 schede per la registrazione dei risultati
- 1 scheda tecnica

COMPOSIZIONE

Galleria

La composizione della galleria API 20 A è riportata nella Tabella di Lettura di questa scheda tecnica.

Terreno

API 20 A Medium 4 ml	Tripticasi	5 g
	Estratto di lievito	5 g
	Cloruro di sodio	2,5 g
	L-triptofano	0,2 g
	L-cistina	0,4 g
	Emina (origine suina)	0,005 g
	Vitamina K_1	0,01 g
	Solfito di sodio	0,1 g
	Acqua demineralizzata	q.b. 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

REATTIVI E MATERIALE NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi / strumenti

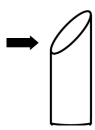
- Olio di paraffina (Cod. 70 100)
- Reattivi: BCP (Cod. 70 510)
  EHR (Cod. 70 520)
  XYL (Cod. 70 530)
- McFarland Standard (Cod. 70 900)
- Catalogo Analitico API 20 A (Cod. 20 390); Software di identificazione **api*web* TM** (Cod. 40 011), strumento automatico ATB™ o ***mini API*** (consultare bioMérieux)
- Acqua ossigenata sol. al 3 %

Materiale

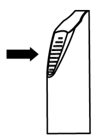
- Tamponi
- Pipette ou PSIpette
- Sistema per creare una atmosfera anaerobia
- Porta-fiale
- Proteggi-fiala
- Materiale generico per laboratorio di batteriologia comprendente una lampada UV (365 nm)

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Per diagnostica *in vitro* e per controllo microbiologico.**
- **Esclusivamente per uso professionale.**
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- I prelievi, le colture batteriche ed i prodotti seminati devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata. Le tecniche di asepsi e le precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato devono essere rispettate durante tutta la manipolazione ; fare riferimento a "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue* ; *Approved Guideline* – Versione vigente". Per informazioni complementari sulle precauzioni nella manipolazione, fare riferimento a "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Ultima edizione", oppure alla legislazione in vigore nel paese di utilizzazione.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso verificare l'integrità dell'imballaggio e dei componenti.
- Non utilizzare gallerie che abbiano subito una alterazione fisica: cupole deformate, …
- Aprire le fiale delicatamente come segue:
  - Inserire la fiala nel proteggi-fiala.
  - Impugnare la fiala in posizione verticale (cappuccio bianco rivolto verso l'alto).
  - Spingere bene in fondo il cappuccio.
    * *Modello 1 :*



    - Appoggiare la prima falange del pollice sulla parte inclinata del cappuccio.
    - Premere con il pollice sulla sulla base della parte inclinata del cappuccio fino a rompere l'estremità della fiala.
    * *Modello 2 :*



    - Premere orizzontalmente con il pollice sulla parte striata del cappuccio fino a rompere l'estremità della fiala.
  - Estrarre la fiala dal proteggi-fiala e conservare il proteggi-fiala per una successiva utilizzazione.
  - Togliere delicatamente il cappuccio.

- Le performance riportate di seguito sono state ottenute seguendo il procedimento indicato in questa scheda tecnica. Qualsiasi deviazione dal procedimento indicato può alterare i risultati.
- L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto del contesto clinico o di altra natura, dell'origine del campione, degli aspetti macro e microscopici del ceppo ed, eventualmente, dei risultati di altri esami, in particolare dell'antibiogramma.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Le gallerie ed i terreni vanno conservati a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

CAMPIONI (PRELIEVO E PREPARAZIONE)

I campioni clinici o di altra natura non possono essere utilizzati direttamente con API 20 A.
I microrganismi da identificare devono dapprima essere isolati su un idoneo terreno di coltura utilizzando le usuali tecniche microbiologiche.

PROCEDIMENTO

Preparazione dell'inoculo

- Aprire la fiala di API 20 A Medium come indicata al paragrafo "Avvertenze e precauzioni".
- Servendosi di un tampone, prelevare tutte le colonie ottenute su agar al sangue in anaerobiosi. Utilizzare preferibilmente delle colture giovani (18-24 ore). Verificare attentamente la purezza del ceppo (eseguire eventualmente una subcoltura a partire da una colonia ben isolata).
- Mantenere la fiala in posizione verticale ed emulsionare i germi facendo ruotare il tampone contro la parete della fiala avendo cura che resti immerso nel terreno di sospensione. L'opacità finale deve essere superiore o uguale a quella del punto 3 di McFarland. Questa sospensione deve essere utilizzata immediatamente. I batteri a crescita lenta possono rendere necessario, per ottenere l'inoculo della densità richiesta, l'uso di varie piastre di subcoltura.
  NOTA: Per mantenere una certa anaerobiosi, si consiglia di evitare l'introduzione di aria durante l'omogeneizzazione del terreno.

Preparazione della galleria

- Riunire fondo e coperchio di una vaschetta di incubazione e distribuire circa 5 ml d'acqua distillata o demineralizzata [o semplicemente acqua senza additivi o derivati in grado di liberare gas (Es: Cl_2, CO_2 ...)] negli alveoli per creare un ambiente umido.
- Annotare il riferimento del ceppo sulla linguetta laterale della vaschetta. (Non annotare il riferimento sul coperchio, in quanto potrebbe essere spostato al momento della manipolazione).
- Estrarre una galleria API 20 A dalla sua confezione e sistemarla nella vaschetta di incubazione.
- Servendosi di una pipetta sterile inoculare la galleria con API 20 A Medium seminato, evitando la formazione di bolle ed inclinando leggermente la galleria.
  - Per il test |GEL|, riempire microprovetta e cupola.
  - Per il test IND, riempire soltanto la microprovetta con API 20 A Medium e riempire la cupola con olio di paraffina, per evitare l'evaporazione dell'indolo formato.
- Richiudere la vaschetta di incubazione ed incubare 24 ore (± 2 ore) a 36°C ± 2°C, in camera anaerobia o in giara o in busta per anaerobiosi individuale.
- L'API 20 A Medium in eccesso può essere utilizzato per verificare la purezza e la vitalità del ceppo, inoculandolo in profondità in agar oppure inoculando 2 piastre di Petri incubate una in aerobiosi e l'altra in anaerobiosi.

LETTURA E INTERPRETAZIONE

Lettura della galleria

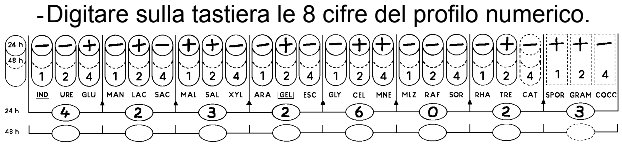
Molti batteri anaerobi danno una risposta chiara e facile da interpretare in 24 ore, ma alcuni ceppi hanno una crescita lenta e sono identificabili solo dopo 48 ore d'incubazione.

- La lettura della galleria deve essere eseguita, dopo l'incubazione, facendo riferimento alla Tabella di Lettura.
- Annotare sull'apposita scheda dei risultati tutte le reazioni spontanee (che non necessitano di aggiunta di reattivi).
- Rivelare i test che necessitano delll'aggiunta dei reattivi:
  - Il BCP presente nel terreno di reazione può essere decolorato per riduzione. In questo caso, rivelare la reazione di acidificazione aggiungendo 1 goccia di reattivo BCP in tutte le microprovette contenenti carboidrati. Una colorazione **gialla** o **giallo-verde** è indice di una reazione **positiva** da annotare sulla scheda per la registrazione dei risultati.
  - Test IND: aggiungere 1 goccia di reattivo XYL. Miscelare ed attendere 2-3 minuti. Aggiungere 1 goccia di reattivo EHR. Il reattivo deve restare sulla superficie della miscela xilene/olio di paraffina a livello della cupola (per non diluire la colorazione nella microprovetta). La lettura deve essere eseguita nei 5 minuti successivi. Una colorazione **rossa** è indice di una reazione **positiva** da annotare sulla scheda per la registrazione dei risultati.
  - Test CAT: La produzione di catalasi viene messa in evidenza dopo 30 minuti di esposizione delle gallerie all'aria. Aggiungere 2 gocce di H_2O_2 al 3 % in una microprovetta positiva. La comparsa di **bolle** indica una reazione **positiva** da annotare sulla scheda dei risultati.

Interpretazione

L'identificazione si ottiene partendo dal **profilo numerico**.

- Determinazione del profilo numerico:
  La scheda dei risultati riproduce il disegno della galleria API 20 A con i suoi 20 test, più la reazione della catalasi ed i 3 test di morfologia: SPOR per spora (+, –), GRAM (+, –) e COCC per cocchi (+, –). Sulla scheda dei risultati i test sono divisi in gruppi di tre e per ciascuno di essi è indicato un valore pari a 1, 2 o 4. Sommando all'interno di ciascun gruppo di test i valori corrispondenti alle reazioni positive, si ottiene un numero di 8 cifre che costituisce il profilo numerico.
- Identificazione:
  Si ottiene partendo dalla base dei dati (V 4.0)
  * utilizzando l'Indice Analitico:
  -Ricercare il profilo numerico nella lista dei profili.
  * tramite lo strumento automatico ATB™, del ***mini API***, o il software di identificazione **api*web*** **™** :
  -Digitare sulla tastiera le 8 cifre del profilo numerico.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le gallerie, i terreni ed i reattivi sono sottoposti a controlli di qualità sistematici nelle diverse fasi del ciclo produttivo. Inoltre l'utilizzatore può eseguire un controllo batteriologico dei test della galleria utilizzando preferibilmente il ceppo **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124**, oppure uno dei seguenti ceppi:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Questo risultato può variare in funzione del terreno di coltura utilizzato.

Profilo ottenuto dopo 24 ore di incubazione dopo coltura dei ceppi su agar Columbia al sangue di montone.

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione vigente.

LIMITI DEL METODO

- Il sistema API 20 A è destinato esclusivamente all'identificazione biochimica dei batteri anaerobi inclusi nella base dei dati (vedere la Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica). Non può essere utilizzato per identificare altri microrganismi o per escluderne la presenza.
- Devono essere utilizzate unicamente colture pure contenenti un solo tipo di microrganismo.

RESULTATI ATTESI

Per i risultati attesi per le differenti reazioni biochimiche far riferimento alla Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica.

PERFORMANCE

Sono stati testati 2968 ceppi di origine diversa e ceppi di collezione appartenenti alle specie incluse nella base dei dati:

- l'89 % dei ceppi è stato correttamente identificato (con o senza test complementari).
- il 5,8 % dei ceppi non è stato identificato.
- il 5,2 % dei ceppi non è stato correttamente identificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

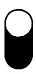
Smaltire tutti i reattivi utilizzati o non utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.
E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

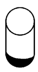
TABELLA DI LETTURA

TESTS	SUBSTRATI	QUANTITA' (mg/cup.)	REAZIONI / ENZIMI	RISULTATI NEGATIVI	RISULTATI POSITIVI
				XYL - miscelare / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-trIptofano	0,98	formazione di INDolo	giallo	rosso
URE	urea	0,648	UREasi	giallo-arancio	rosso
				BCP	
GLU	D-glucosio	1,96	acidificazione (GLUcosio)	porpora	giallo / giallo-verde
MAN	D-mannitolo	1,96	acidificazione (MANnitolo)	porpora	giallo / giallo-verde
LAC	D-lattosio (origine bovina)	1,96	acidificazione (LAttosio)	porpora	giallo / giallo-verde
SAC	D-saccarosio	1,86	acidificazione (SACcarosio)	porpora	giallo / giallo-verde
MAL	D-maltosio	1,96	acidificazione (MALtosio)	porpora	giallo / giallo-verde
SAL	salicina	1,64	acidificazione (SALicina)	porpora	giallo / giallo-verde
XYL	D-xilosio	1,64	acidificazione (XiLosio)	porpora	giallo / giallo-verde
ARA	L-arabinosio	1,64	acidificazione (ARAbinosio)	porpora	giallo / giallo-verde
|GEL|	gelatina (origine bovina)	0.6	idrolisi (proteasi) (GELatina)	nessuna diffusione del pigmento (1)	diffusione del pigmento nero (1)
ESC	esculina citrato di ferro	0,36 0,11	idrolisi (ß-glucosidasi) (ESCulina)	giallo (2)	marrone-nero (2)
				sotto UV (365 nm)	
				fluorescenza	senza fluorescenza
				BCP	
GLY	glicerolo	1,82	acidificazione (GLIcerolo)	porpora	giallo / giallo-verde
CEL	D-cellobiosio	1,86	acidificazione (CELlobiosio)	porpora	giallo / giallo-verde
MNE	D-mannosio	1,96	acidificazione (ManNosio)	porpora	giallo / giallo-verde
MLZ	D-melezitosio	1,96	acidificazione (MeLeZitosio)	porpora	giallo / giallo-verde
RAF	D-raffinosio	2,18	acidificazione (RAFfinosio)	porpora	giallo / giallo-verde
SOR	D-sorbitolo	2,18	acidificazione (SORbitolo)	porpora	giallo / giallo-verde
RHA	L-ramnosio	1,96	acidificazione (RAmnosio)	porpora	giallo / giallo-verde
TRE	D-trealosio	1,96	acidificazione (TREalosio)	porpora	giallo / giallo-verde
				Dopo 30 minuti all'aria H_2O_2 in una microprovetta positiva	
CAT		–	CATalasi	assenza di bolle	presenza di bolle
SPOR		–	spore	assenza	presenza
GRAM		–	colorazione di Gram	rosa	viola
COCC		–	morfologia	bacillo	cocco

(1) Durante l'incubazione in giara rotonda, il pigmento diffonde solo nella parte inferiore della microprovetta.
(2) La colorazione marrone-nera si sviluppa talvolta solo dopo che la galleria è stata esposta all'aria: tenerne conto al momento della lettura.
La colorazione nera può essere dovuta alla formazione di FeS, causata dalla reazione dell'H_2S con il citrato di ferro. In caso di produzione debole, la colorazione è limitata alla parte inferiore della provetta; quando la produzione è elevata può essere necessario eseguire una lettura a luce UV.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Le quantità indicate possono variare in funzione dei titoli delle materie prime.
- Alcuni test contengono dei componenti di origine animale, in particolare dei peptoni.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Stampato in Francia

api® 20 A

IVD

Sistema de identificação das bactérias anaeróbias

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O sistema API 20 A permite detectar rápida e facilmente 21 caracteres para a identificação bioquímica das bactérias anaeróbias. Outros caracteres tais como o crescimento em gelose profunda, o aspecto das colónias, a morfologia celular, a coloração de Gram... devem ser detectados e integrados no procedimento utilizado para poder efectuar uma identificação completa. A lista completa das bactérias possíveis de identificar com este sistema encontra-se no Quadro de Identificação no final deste folheto informativo.

PRINCÍPIO

A galeria API 20 A engloba 20 microtubos que contêm substratos desidratados. Os microtubos são inoculados com uma suspensão bacteriana que reconstitui os testes. As reacções produzidas durante o período de incubação traduzem-se por viragens de cor espontâneas ou reveladas pela adição de reagentes.
A leitura destas reacções faz-se utilizando o Quadro de Leitura e a identificação obtém-se consultando o Catálogo Analítico ou um sistema de identificação.

APRESENTAÇÃO (Embalagem de 25 testes)

- 25 galerias API 20 A
- 25 caixas de incubação
- 25 ampolas de API 20 A Medium
- 25 fichas de resultados
- 1 folheto informativo

COMPOSIÇÃO

Galeria

A composição da galeria API 20 A está indicada no quadro de leitura deste folheto informativo.

Meio

API 20 A Medium 4 ml	Tripticase	5 g
	Extracto de levedura	5 g
	Cloreto de sódio	2,5 g
	L-triptofano	0,2 g
	L-cistina	0,4 g
	Hemina (origem porcina)	0,005 g
	Vitamina K_1	0,01 g
	Sulfito de sódio	0,1 g
	Água desmineralizada	q.b. 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes / Aparelho

- Óleo de parafina (Ref. 70 100)
- Reagentes: BCP (Ref. 70 510)
  EHR (Ref. 70 520)
  XYL (Ref. 70 530)
- McFarland Standard (Ref. 70 900)
- Catálogo Analítico API 20 A (Refª 20 390), programa de identificação **api*web*** ™ (Refª 40 011), aparelho ATB ™ ou ***mini API*** (consultar a bioMérieux)
- Água oxigenada sol. a 3%

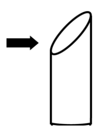
Materiais

- Zaragatoas/Swabs
- Pipetas ou PSIpetas
- Sistema de anaerobiose
- Suporte para ampolas
- Protector de ampola
- Equipamento geral de laboratório de bacteriologia, entre o qual, uma lâmpada UV (365 nm)

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

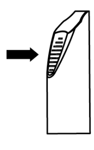
- **Para diagnóstico *in vitro* e controlo microbiológico.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é recomendado manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- As amostras, culturas bacterianas e produtos semeados devem ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados de maneira apropriada. As técnicas assépticas e as precauções habituais de manipulação para o grupo bacteriano estudado devem ser respeitadas durante toda a manipulação; consultar o "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – Revisão em vigor". Para informações complementares sobre as precauções de manipulação, consultar o "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Última edição," ou a regulamentação em vigor no país de utilização.
- Não utilizar os reagentes após a data de validade.
- Antes da utilização, assegurar-se de que a embalagem e os componentes não estão danificados.
- Não utilizar galerias que tenham sofrido uma alteração física: cúpula deformada, …
- Abrir cuidadosamente as ampolas, como abaixo indicado:
  - Colocar a ampola no protector de ampola.
  - Segurar o conjunto verticalmente numa mão (com a tampa branca para cima).
  - Fechar correctamente a tampa.

    ** Modelo 1:*

    - Cobrir com a falange do polegar a parte inclinada da tampa.
    - Pressionar com o polegar a base da parte inclinada da tampa para partir a extremidade da ampola.

    ** Modelo 2:*

    - Pressionar horizontalmente com o polegar a parte estriada da tampa de modo a partir a extremidade da ampola.
  - Retirar a ampola do protector de ampola e guarde-o para uma posterior utilização.
  - Retirar delicadamente a tampa.

- O comportamento funcional apresentado é obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio à metodologia pode alterar os resultados.
- A interpretação dos resultados do teste deve ser efectuada tendo em conta o contexto clínico ou outro, a origem da amostra, os aspectos macro e microscópicos da estirpe/cepa e, eventualmente, os resultados de outros testes, em especial, do antibiograma.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

As galerias e os meios conservam-se a 2º - 8° C até à data de validade indicada na embalagem.

AMOSTRAS (COLHEITA/COLETA E PREPARAÇÃO)

O API 20 A não deve ser utilizado directamente a partir de amostras de origem clínica ou outras.
Os microrganismos a identificar devem ser primeiro isolados num meio de cultura adaptado segundo as técnicas habituais de bacteriologia.

PROCEDIMENTO

Preparação do inóculo

- Abrir a ampola de API 20 A Medium como indicado no parágrafo "Precauções de utilização".
- Com uma zaragatoa/swab, colher/coletar todas as colónias obtidas em gelose de sangue em anaerobiose. Utilizar preferencialmente culturas recentes (18-24 horas). Verificar bem a pureza da estirpe/cepa (eventualmente, efectuar uma subcultura a partir de uma colónia bem isolada).
- Segurar verticalmente a ampola e emulsionar os germes esfregando e rodando a zaragatoa/swab contra a parede da ampola, que permanece no meio de suspensão. A opacidade final deve ser superior ou igual à do padrão 3 de McFarland. Esta suspensão deve ser utilizada imediatamente após a sua preparação. As bactérias de crescimento lento podem necessitar de várias placas de subcultura para obter o inóculo com a densidade requerida.
  NOTA: Para manter uma certa anaerobiose, convém evitar a introdução de ar durante a homogeneização do meio.

Preparação da galeria

- Juntar fundo e tampa de uma caixa de incubação e distribuir cerca de 5 ml de água destilada ou desmineralizada [ou qualquer água sem aditivo ou derivados susceptíveis de libertarem gases (Ex : Cl_2, CO_2 ...)] nos alvéolos para criar uma atmosfera húmida.
- Inscrever as referências das estirpes/cepas na lingueta lateral da caixa. (Não inscrever as referências na tampa, esta pode ser movida durante a manipulação.)
- Retirar uma galeria API 20 A da sua embalagem e colocá-la na caixa de incubação.
- Utilizando uma pipeta estéril, inocular a galeria com a suspensão API 20 A Medium semeada, evitando a formação de bolhas e inclinando ligeiramente a galeria.
  - Para o teste |GEL|, encher tubo e cúpula.
  - Para o teste IND, encher unicamente o tubo com API 20 A Medium e encher a cúpula com óleo de parafina, para evitar a evaporação do indol formado.
- Fechar a caixa de incubação e incubar 24 horas (± 2 horas) a 36°C ± 2°C, em câmara anaeróbia, em jarra ou em saqueta/sachet individual.
- O excesso de API 20 A Medium pode servir para verificar a pureza e a viabilidade da estirpe/cepa, inoculando uma gelose em profundidade ou um conjunto de 2 placas de meio de cultura, incubadas uma em aerobiose e outra em anaerobiose.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Leitura da galeria

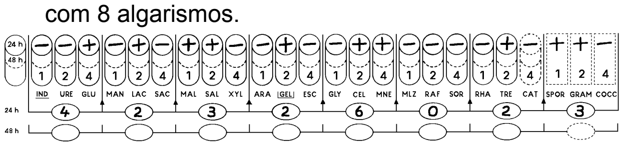
Muitas bactérias anarerróbias dão, em 24 horas, uma resposta clara e fácil de interpretar, mas algumas estirpes/cepas têm um crescimento lento e são apenas identificáveis após 48 horas de incubação.

- Após incubação, a leitura da galeria deve ser efectuada consultando o Quadro de Leitura.
- Anotar na ficha de resultados todas as reacções espontâneas (que não necessitem de adição de reagentes).
- Revelar os testes que necessitem de adição de reagentes :
  - O BCP do meio reaccional pode ser descorado por redução. Neste caso, revelar a reacção de acidificação adicionando 1 gota de reagente BCP a todos os microtubos que contêm carbohidratos. Uma cor **amarela** ou **verde-amarelada** indica uma reacção **positiva** a anotar na ficha de resultados.
  - Teste IND : adicionar 1 gota de reagente XYL. Misturar e esperar 2-3 minutos. Acrescentar 1 gota de reagente EHR. O reagente deve ficar à superfície da mistura xileno/óleo de parafina ao nível da cúpula (para não diluir a coloração no microtubo). Ler nos 5 minutos a seguir. Uma cor **vermelha** indica uma reacção **positiva** a anotar na ficha de resultados.
  - Teste CAT : A produção de catalase é detectada após 30 minutos de exposição das galerias ao ar livre. Adicionar 2 gotas de H_2O_2 a 3% num tubo positivo. O aparecimento de **bolhas** indica uma reacção **positiva** a anotar na ficha de resultados.

Interpretação

A identificação é obtida a partir do **perfil numérico**.

- Determinação do perfil numérico :
  A ficha de resultados reproduz o desenho da galeria API 20 A com os seus 20 testes, a reacção da catalase e 3 testes de morfologia : SPOR para esporos (+, –), GRAM (+, –) e COCC para cocos (+, –). Na ficha de resultados, os testes são distribuídos em grupos de três e um valor 1, 2 ou 4 é indicado para cada um. Adicionando no interior de cada grupo os números correspondentes às reacções positivas, obtêm-se 8 algarismos que constituem o perfil numérico.
- Identificação :
  É efectuada a partir da base de dados (V 4.0)
  * com o Catálogo Analítico :
  -Pesquisar o perfil numérico na lista dos perfis.
  * com o programa ATB ™, ***mini API*** ou com o programa de identificação **api*web*** **™**:
  -Introduzir manualmente no teclado o perfil numérico com 8 algarismos.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

CONTROLO DE QUALIDADE

Os meios, galerias e reagentes são sujeitos a controlos de qualidade sistemáticos nas diferentes etapas do seu fabrico. Além disso, o utilizador pode efectuar um controlo bacteriológico dos testes da galeria, preferencialmente com a estirpe/cepa **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** ou com uma das estirpes/cepas seguintes :

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Este resultado pode variar em função do meio de cultura utilizado.

Perfis obtidos após 24 horas de incubação após cultura em gelose Columbia com sangue de carneiro.

É da responsabilidade do utilizador assegurar que o controlo de qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

- O sistema API 20 A destina-se à identificação bioquímica das bactérias anaeróbias presentes na base de dados (consultar o Quadro de Identificação no final do folheto informativo) e apenas a estas. Não pode ser utilizado para identificar outros microrganismos ou excluir a sua presença.
- Devem apenas ser utilizadas culturas puras contendo um único tipo de microrganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar o Quadro de Identificação no final deste folheto informativo para saber os resultados esperados para as diferentes reacções bioquímicas.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Foram testadas 2968 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados :

- 89 % das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
- 5,8 % das estirpes/cepas não foram identificadas.
- 5,2 % das estirpes/cepas foram mal identificadas.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados, bem como os materiais descartáveis contaminados, em conformidade com os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.
É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

QUADRO DE LEITURA

TESTES	COMPONENTES ACTIVOS	QTD (mg/cúp.)	REACÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
				XYL - misturar / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-triptofano	0,98	formação de INDol	amarelo	vermelho
URE	ureia	0,648	UREase	amarelo-alaranjado	vermelho
				BCP	
GLU MAN LAC SAC MAL SAL XYL ARA	D-glucose D-manitol D-lactose (origem bovina) D-sacarose D-maltose salicina D-xilose L-arabinose	1,96 1,96 1,96 1,86 1,96 1,64 1,64 1,64	acidificação (GLUcose) acidificação (MANnitol) acidificação (LACtose) acidificação (SACcarose) acidificação (MALtose) acidificação (SALicina) acidificação (XYLose) acidificação (ARAbinose)	púrpura	amarelo / verde-amarelado
GEL	gelatina (origem bovina)	0,6	hidrólise (protease) (GELatina)	Não há difusão do pigmento (1)	Difusão do pigmento negro (1)
ESC	esculina citrato de ferro	0,36 0,11	hidrólise (ß-glucosidase) (ESCulina)	amarelo (2)	castanho-negro (2)
				com UV (365 nm)	
				fluorescência	sem fluorescência
				BCP	
GLY CEL MNE MLZ RAF SOR RHA TRE	glicerol D-celobiose D-manose D-melezitose D-rafinose D-sorbitol L-ramnose D-trehalose	1,82 1,86 1,96 1,96 2,18 2,18 1,96 1,96	acidificação (GLYcerol) acidificação (CELlobiose) acidificação (MaNosE) acidificação (MeLeZitose) acidificação (RAFinose) acidificação (SORbitol) acidificação (RHAmnose) acidificação (TREhalose)	púrpura	amarelo / verde-amarelado
				Após 30 min ao ar livre H_2O_2 num tubo positivo	
CAT		–	CATalase	ausência de bolhas	Presença de bolhas
SPOR		–	Esporos	ausência	presença
GRAM		–	Coloração de Gram	rosa	violeta
COCC		–	Morfologia	bacilo	cocos

(1) Em incubação em jarra redonda, o pigmento difunde unicamente na parte inferior do tubo.
(2) A coloração castanho-negro desenvolve-se, por vezes, unicamente ao ar livre : ter em conta para a leitura.
A coloração negra pode ser devida à formação de FeS, o H_2S que reage com o citrato de ferro. Uma produção fraca limita-se à parte inferior do tubo; uma produção importante obriga a recorrer à leitura em luz UV.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.
- Algumas cúpulas contêm componentes de origem animal, nomeadamente, peptonas.

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261
CNPJ: 33.040.635/0001-71
Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Impresso em França

api® 20 A

IVD

Σύστημα ταυτοποίησης των αναερόβιων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το σύστημα API 20 A καθιστά δυνατή την γρήγορη και εύκολη εκτέλεση 21 εξετάσεων για την βιοχημική ταυτοποίηση των αναερόβιων. Άλλες εξετάσεις όπως η μορφολογία των αποικιών και η μικροσκοπική εικόνα, η χρώση Gram, κλπ. θα πρέπει να εκτελούνται και τα αποτελέσματα να χρησιμοποιούνται για να επιβεβαιώσουν ή να συμπληρώσουν την ταυτοποίηση. Ο πλήρης κατάλογος εκείνων των οργανισμών που είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν με αυτό το σύστημα παρατίθεται στον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγιών.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ταινία API 20 αποτελείται από 20 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα. Αυτές οι εξετάσεις ενοφθαλμίζονται με ένα βακτηριακό εναιώρημα που προκαλεί ανασύσταση των υλικών. Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες ή αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων.
Οι αντιδράσεις διαβάζονται σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης και η ταυτοποίηση γίνεται με αναφορά στον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ ή χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (Συσκευασία για 25 εξετάσεις)

- 25 ταινίες API 20 A
- 25 κυτία επώασης
- 25 φύσιγγες API 20 A Medium
- 25 φύλλα αποτελεσμάτων
- 1 εσώκλειστο οδηγιών

ΣΥΝΘΕΣΗ

Ταινίες

Η σύνθεση της ταινίας API 20 A δίνεται στον Πίνακα Ανάγνωσης αυτού του εσώκλειστου οδηγιών.

Υλικό

API 20 A Medium 4 ml	Τρυπτικάση	5 g
	Εκχύλισμα ζύμης	5 g
	Χλωριούχο νάτριο	2.5 g
	L-τρυπτοφάνη	0.2 g
	L-κυστίνη	0.4 g
	Αιμίνη (χοίρειος προέλευση)	0.005 g
	Βιταμίνη K_1	0.01 g
	Θειούχο νάτριο	0.1 g
	Απιονισμένο νερό για να γίνουν	1000 ml
	pH 6.9-7.3	

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Αντιδραστήρια / Όργανα

- Mineral oil (Ref. 70 100)
- Αντιδραστήρια : BCP (Ref. 70 510)
  EHR (Ref. 70 520)
  XYL (Ref. 70 530)
- McFarland Standard (Ref. 70 900)
- Κατάλογος Αναλυτικών Προφίλ API 20 A (Ref. 20 390), λογισμικό ταυτοποίησης **api*web* ™** (Ref. 40 011), όργανο ATB ™ ή ***mini API*** (συμβουλευθείτε την bioMérieux)
- Υπεροξείδιο υδρογόνου (3 %)

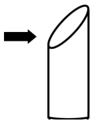
Υλικά

- Στυλεοί
- Πιπέττες ή PSIpettes
- Γεννήτρια αναερόβιας ατμόσφαιρας
- Εσχάρα για φύσιγγες
- Προστατευτική συσκευή φυσίγγων
- Γενικός μικροβιολογικός εξοπλισμός συμπεριλαμβανόμενου λαμπτήρα Ultra violet (365 nm)

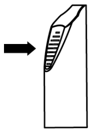
ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- **Για *in vitro* διαγνωστική χρήση και μικροβιολογικό έλεγχο.**
- **Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.**
- Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
- Όλα τα δείγματα, οι μικροβιακές καλλιέργειες και τα ενοφθαλμισμένα προϊόντα θα πρέπει να θεωρούνται μολυσματικά και να αντιμετωπίζονται καταλλήλως. Άσηπτες τεχνικές και οι συνήθεις προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Αναφερθείτε στο έγγραφο "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – Τρέχουσα αναθεώρηση". Για πρόσθετες προφυλάξεις κατά το χειρισμό, αναφερθείτε στο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH – Τελευταία έκδοση", ή στους ισχύοντες κανονισμούς κάθε χώρας.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι η συσκευασία και τα περιεχόμενα είναι άθικτα.
- Μη χρησιμοποιείτε ταινίες οι οποίες παρουσιάζουν φθορές : παραμορφωμένα κυπέλια, κλπ.

- Ανοίξτε τις φύσιγγες προσεκτικά ως εξής :
  - Τοποθετήστε την φύσιγγα στην προστατευτική συσκευή.
  - Κρατήστε την προστατευμένη φύσιγγα με το ένα χέρι σε κάθετη θέση (το λευκό πλαστικό κάλυμμα προς τα πάνω).
  - Πιέστε το κάλυμμα προς τα κάτω για όσο μεγαλύτερη απόσταση γίνεται.



** Μοντέλο 1 :*
    - Καλύψτε το επιπεδωμένο τμήμα του καλύμματος με το άνω μέρος του αντίχειρα.
    - Εφαρμόστε πίεση με τον αντίχειρα σε κίνηση προς τα έξω στην βάση του επιπεδωμένου τμήματος του καλύμματος για να αφαιρέσετε σπάζοντας την κορυφή της φύσιγγας μέσα στο κάλυμμα.



** Μοντέλο 2 :*
    - Τοποθετήστε την άκρη του αντίχειρα στο ραβδωτό τμήμα του καλύμματος και πιέστε προς τα εμπρός για να αφαιρέσετε σπάζοντας την κορυφή της φύσιγγας μέσα στο κάλυμμα.
  - Βγάλτε την φύσιγγα από την προστατευτική συσκευή και φυλάξτε την προστατευτική συσκευή για επόμενη χρήση.
  - Προσεκτικά αφαιρέστε το κάλυμμα.
- Τα δεδομένα απόδοσης της μεθόδου που παρουσιάζονται ελήφθησαν ακολουθώντας τη διαδικασία η οποία περιγράφεται σε αυτό το εσώκλειστο οδηγιών. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, την προέλευση του δείγματος, τη μορφολογία των αποικιών και τη μικροσκοπική εικόνα του στελέχους και, αν χρειάζεται, τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί, ιδιαίτερα τις εξετάσεις ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

Οι ταινίες και τα υλικά πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ (ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ)

Το API 20 A δεν προορίζεται για απευθείας χρήση με κλινικά ή άλλα δείγματα.
Οι μικροοργανισμοί προς ταυτοποίηση πρέπει πρώτα να απομονωθούν σε κατάλληλο υλικό καλλιέργειας σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία του εναιωρήματος

- Ανοίξτε μια φύσιγγα API 20 A Medium όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις".
- Χρησιμοποιώντας ένα στυλεό, συλλέξτε όλες τις αποικίες που αναπτύχθηκαν στο αιματούχο άγαρ σε αναερόβιες συνθήκες. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε νέες καλλιέργειες (18-24 ωρών). Ελέγξτε ότι το στέλεχος είναι καθαρό. (Αν χρειάζεται, εκτελέστε μια ανακαλλιέργεια χρησιμοποιώντας μια καλά απομονωμένη αποικία).
- Κρατήστε την φύσιγγα σε όρθια θέση και ομογενοποιήστε τους οργανισμούς περιστρέφοντας και τρίβοντας τον στυλεό στο πλαϊνό μέρος της φύσιγγας χωρίς να τον αφαιρέσετε από το υλικό εναιωρήματος. Η τελική θολερότητα θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη ή ίση με <u>3 McFarland</u>. Το εναιώρημα αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία. Αργά αναπτυσσόμενοι οργανισμοί μπορεί να χρειάζονται περισσότερο από ένα μόνο τρυβλίο αιματούχου άγαρ για να επιτευχθεί αυτή η πυκνότητα του εναιωρήματος.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Για να διατηρήσετε αναερόβιες συνθήκες, αποφύγετε να εισάγετε αέρα στο υλικό κατά την ομογενοποίησή του.

Προετοιμασία της ταινίας

- Προετοιμάστε το κυτίο επώασης (δίσκος και κάλυμμα) και διανείμετε περίπου 5 ml απεσταγμένου ή απιονισμένου ύδατος [ή οποιουδήποτε ύδατος χωρίς πρόσθετα ή χημικά που μπορεί να απελευθερώσουν αέρια (π.χ. Cl_2, CO_2, κλπ.)] στις κυψέλες του δίσκου για να δημιουργήσετε μια υγρή ατμόσφαιρα.
- Καταγράψτε τους κωδικούς του στελέχους στο επίμηκες πτερύγιο του δίσκου. (Μην καταγράφετε τους κωδικούς στο κάλυμμα, διότι μπορεί να τοποθετηθεί λανθασμένα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας.)
- Αφαιρέστε μια ταινία API 20 A από τη συσκευασία της και τοποθετήστε την στον δίσκο επώασης.
- Χρησιμοποιώντας μια άσηπτη πιπέττα, ενοφθαλμίστε την ταινία με το εναιώρημα της φύσιγγας του API 20 A Medium, αποφεύγοντας το σχηματισμό φυσαλίδων και γέρνοντας την ταινία ελαφρώς προς τα εμπρός.
  - Για την εξέταση |GEL|, γεμίστε και το σωληνάριο και το κυπέλιο.
  - Για την εξέταση <u>IND</u>, γεμίστε μόνο το σωληνάριο με API 20 A Medium και γεμίστε το κυπέλιο με παραφινέλαιο για να εμποδίσετε την εξάτμιση της ινδόλης.
- Τοποθετήστε το καπάκι στο δίσκο και επωάστε για 24 ώρες (± 2 ώρες) στους 36°C ± 2°C σε ένα αναερόβιο χώρο, δοχείο ή σακούλι.
- Το επιπλέον API 20 A Medium μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της καθαρότητας και της βιωσιμότητας του στελέχους, ενοφθαλμίζοντας ένα ζευγάρι από 2 τρυβλία υλικού καλλιέργειας (το ένα ενοφθαλμίστε το αερόβια και το άλλο αναερόβια).

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ανάγνωση της ταινίας

Πολλά αναερόβια βακτήρια προκαλούν αντιδράσεις οι οποίες είναι σαφείς και εύκολες στην ανάγνωση μέσα σε 24 ώρες, αλλά μερικά στελέχη αναπτύσσονται αργά και μπορούν να ταυτοποιηθούν μόνο μετά από 48 ώρες επώασης.

- Μετά την επώαση, διαβάστε την ταινία με βάση τον Πίνακα Ανάγνωσης.
- Καταγράψτε όλες τις αυτόματες αντιδράσεις (εκείνων που δεν απαιτούν την προσθήκη αντιδραστηρίων) στο φύλλο αποτελεσμάτων.
- Αποκαλύψτε τις εξετάσεις που απαιτούν την προσθήκη αντιδραστηρίων :
  - Το BCP που βρίσκεται στο υλικό αντίδρασης μπορεί να αποχρωματιστεί λόγω αναγωγής. Σε αυτή την περίπτωση, αποκαλύψτε την αντίδραση οξίνισης προσθέτοντας 1 σταγόνα αντιδραστηρίου BCP σε όλους τους μικροσωλήνες που περιέχουν υδατάνθρακες. Ένα **κίτρινο** ή **κιτρινο-πράσινο** χρώμα υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.
  - Εξέταση <u>IND</u> : προσθέστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου XYL στην επίστρωση παραφινέλαιου. Αναδεύστε χρησιμοποιώντας ένα ραβδίο και αφήστε το

για 2-3 λεπτά. Προσθέστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου EHR. Το αντιδραστήριο θα πρέπει να επιπλέει στην επιφάνεια του ξυλόλιου/παραφινέλαιου (έτσι ώστε να μην διαλύει το χρώμα στο μικροσωλήνα). Διαβάστε μέσα σε 5 λεπτά. Ένα **ερυθρό** χρώμα υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.

- Εξέταση CAT : Η παραγωγή καταλάσης καθορίζεται μετά την έκθεση των ταινιών σε αέρα για 30 λεπτά. Προσθέστε 2 σταγόνες H_2O_2 3 % σε ένα μικροσωλήνα με θετική αντίδραση. Η εμφάνιση **φυσαλίδων** υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.

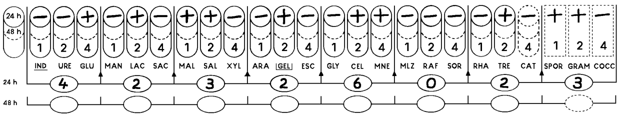
Ερμηνεία

Η ταυτοποίηση προκύπτει με το **αριθμητικό προφίλ**.

- Προσδιορισμός του αριθμητικού προφίλ :
  Το φύλλο αποτελεσμάτων αναπαράγει το περίγραμμα της ταινίας API 20 A με τις 20 εξετάσεις της, συν την αντίδραση καταλάσης και 3 μορφολογικά χαρακτηριστικά : SPOR για σπόριο (+, –), GRAM (+, –) και COCC για κόκκους (+, –). Στο φύλλο αποτελεσμάτων, οι εξετάσεις χωρίζονται σε ομάδες των 3 και για κάθε μια δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Προσθέτοντας τις τιμές που αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 8ψήφιος αριθμός προφίλ.

- Ταυτοποίηση :
  Εκτελείται χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων (V4.0)
  * με τον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ :
  - Αναζητήστε το αριθμητικό προφίλ στον κατάλογο των προφίλ.

  * με το όργανο ATB ™, ***mini API***, ή το λογισμικό ταυτοποίησης **api*web* ™**:
  - Εισάγετε το 8ψήφιο αριθμητικό προφίλ χειροκίνητα χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι ταινίες, τα υλικά και τα αντιδραστήρια ελέγχονται συστηματικά σε διάφορα στάδια της παραγωγής τους. Για εκείνους τους χρήστες που επιθυμούν να διεξάγουν τις δικές τους εξετάσεις ποιοτικού ελέγχου με την ταινία, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιήσουν το στέλεχος **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** ή αλλιώς ένα από τα ακόλουθα στελέχη:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v ***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το υλικό καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκε.

Προφίλ που προέκυψαν μετά από 24 ώρες επώασης έπειτα από καλλιέργεια σε άγαρ Columbia με αίμα προβάτου.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Το σύστημα API 20 A προορίζεται μόνο για την βιοχημική ταυτοποίηση εκείνων των αναερόβιων βακτηρίων που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων (βλέπε Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγιών). Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταυτοποιήσει οποιουσδήποτε άλλους οργανισμούς ή για να αποκλείσει την παρουσία τους.
- Μόνο καθαρές καλλιέργειες αποκλειστικά ενός οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιηθούν.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συμβουλευτείτε τον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγιών για το εύρος των αναμενόμενων αποτελεσμάτων για τις διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Εξετάστηκαν 2968 στελέχη συλλογής και στελέχη διαφόρων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων :

- 89 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
- 5.8 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
- 5.2 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα άχρηστα υλικά και τα υγρά εκροής που παράγονται σύμφωνα με τον τύπο και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΟΣ. (mg/κυπ.)	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ/ΕΝΖΥΜΑ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: ΑΡΝΗΤΙΚΑ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: ΘΕΤΙΚΑ
IND	L-τρυπτοφάνη	0.98	σχηματισμός ινδόλης	XYL - αναδεύστε / 2-3 λεπτά + EHR / 5 λεπτά κίτρινο	ερυθρό
URE	ουρία	0.648	ουρεάση	κιτρινο-πορτοκαλί	ερυθρό
GLU	D-γλυκόζη	1.96	οξίνιση (γλυκόζη)	BCP πορφυρό	κίτρινο / κιτρινο-πράσινο
MAN	D-μαννιτόλη	1.96	οξίνιση (μαννιτόλη)		
LAC	D-λακτόζη (βόειος προέλευση)	1.96	οξίνιση (λακτόζη)		
SAC	D-σακχαρόζη (σουκρόζη)	1.86	οξίνιση (σακχαρόζη)		
MAL	D-μαλτόζη	1.96	οξίνιση (μαλτόζη)		
SAL	σαλικίνη	1.64	οξίνιση (σαλικίνη)		
XYL	D-ξυλόζη	1.64	οξίνιση (ξυλόζη)		
ARA	L-αραβινόζη	1.64	οξίνιση (αραβινόζη)		
GEL	ζελατίνη (βόειος προέλευση)	0.6	υδρόλυση (πρωτέαση) (ζελατίνη)	όχι διάχυση της χρωστικής (1)	διάχυση της μαύρης χρωστικής (1)
ESC	εσκουλίνη ferric citrate	0.36 0.11	υδρόλυση (ß-γλυκοζιδάση) (εσκουλίνη)	κίτρινο (2) σε UV (365 nm) φθορισμός	καφέ-μαύρο (2) όχι φθορισμός
GLY	γλυκερόλη	1.82	οξίνιση (γλυκερόλη)	BCP πορφυρό	κίτρινο / κιτρινο-πράσινο
CEL	D-κελλοβιόζη	1.86	οξίνιση (κελλοβιόζη)		
MNE	D-μαννόζη	1.96	οξίνιση (μαννόζη)		
MLZ	D-μελοζιτόζη	1.96	οξίνιση (μελοζιτόζη)		
RAF	D-ραφφινόζη	2.18	οξίνιση (ραφφινόζη)		
SOR	D-σορβιτόλη	2.18	οξίνιση (σορβιτόλη)		
RHA	L-ραμνόζη	1.96	οξίνιση (ραμνόζη)		
TRE	D-τρεαλόζη	1.96	οξίνιση (τρεαλόζη)		
CAT		–	Καταλάση	Μετά από 30 λεπτά σε αέρα H_2O_2 σε θετικό σωλήνα όχι φυσαλίδες	φυσαλίδες
SPOR		–	σπόροι	απουσία	παρουσία
GRAM		–	αντίδραση Gram	ρόδινο	βιολετί
COCC		–	μορφολογία	βακτηρίδιο	κόκκος

(1) Με επώαση σε ένα στρογγυλό δοχείο, η χρωστική διαχέεται μόνο στο χαμηλότερο μέρος του σωλήνα.

(2) Το καφέ-μαύρο χρώμα μερικές φορές αναπτύσσεται μόνο μετά την έκθεση της ταινίας στον αέρα : αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την ανάγνωση.
Ένα μαύρο χρώμα μπορεί να προκύπτει εξαιτίας του σχηματισμού θειικού σιδήρου (FeS) που προκύπτει από την αντίδραση του H_2S με το ferric citrate. Αυτό δεν υποδηλώνει υδρόλυση εσκουλίνης. Τα δύο μπορούν να διακρίνονται από το γεγονός ότι ο θειικός σίδηρος σχηματίζει ένα μαύρο ίζημα στη βάση του σωλήνα ενώ η υδρόλυση εσκουλίνης έχει ως αποτέλεσμα μια καφέ-μαύρη περιοχή στην επιφάνεια του σωλήνα. Αν ο σωλήνας είναι εντελώς μαύρος, και σε περίπτωση αμφιβολίας, η εξέταση θα πρέπει να διαβάζετε εξετάζοντας για φθορισμό σε UV φως.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.
- Ορισμένα κυπέλια περιέχουν προϊόντα ζωικής προέλευσης, ειδικά πεπτόνες.

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Τηλ. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Τηλ. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Εκτυπώθηκε στη Γαλλία

api® 20 A

IVD

System för identifiering av anaerober

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

API 20 A-systemet möjliggör att 21 tester kan utföras snabbt och enkelt för biokemisk identifiering av anaerober. Andra tester som kolonial och mikroskopisk morfologi, Gramfärgning etc. bör utföras och resultaten från dessa tester används för att konfirmera eller komplettera identifieringen. En fullständig lista över de organismer som är möjliga att identifiera med hjälp av detta system återfinns i Identifieringstabellen, i slutet av denna bipacksedel.

METOD

API 20 A strips består av 20 mikrobrunar som innehåller dehydrerade substrat. Dessa tester inokuleras med en bakteriesuspension som rekonstituerar mediet. Under inkubationen framkallar metabolismen färgförändringar, som antingen är spontana eller framkallas med tillsats av reagenser.
Reaktionerna avläses i enlighet med Avläsningstabellen och identifiering görs med hjälp av Analytical Profile Index, eller genom att använda identifieringsprogrammet.

KITETS INNEHÅLL (Kit för 25 tester)

- 25 API 20 A strips
- 25 inkubationsboxar
- 25 ampuller med API 20 A Medium
- 25 rapportblad
- 1 bipacksedel

SAMMANSÄTTNING

Strips

API 20 A-stripsets sammansättning anges i Avläsnings-tabellen i denna bipacksedel.

Medium

API 20 A Medium 4 ml	Tryptikas	5 g
	Jästextrakt	5 g
	Natriumklorid	2,5 g
	L-tryptofan	0,2 g
	L-cystin	0,4 g
	Hemin (av svin)	0,005 g
	Vitamin K_1	0,01 g
	Natriumsulfit	0,1 g
	Avmineraliserat vatten	upp till 1000 ml
	pH 6,9-7,3	

REAGENSER OCH NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)

Reagenser

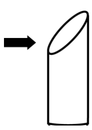
- Mineralolja (Art.nr. 70 100)
- Reagenser: BCP (Art.nr. 70 510)
  EHR (Art.nr. 70 520)
  XYL (Art.nr. 70 530)
- McFarland Standard (Art.nr. 70 900)
- API 20 A Analytical Profile Index (Art.nr. 20 390), **api*web* ™** programvara för identifiering (Art.nr. 40 011), ATB **™** instrument eller ***mini API*** (kontakta bioMérieux)
- Väteperoxid (3 %)

Material

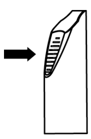
- Bomullsvabbar
- Pipetter eller PSIpettes
- Generator för anaerobisk atmosfär
- Ampullställ
- Ampullskydd
- Allmän utrustning för mikrobiologiskt laboratorium inklusive ultraviolett lampa (365 nm)

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- **Används för *in vitro*-diagnostik och mikrobiologisk kontroll.**
- **Endast för professionell användning.**
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Vi rekommenderar därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (ska inte förtäras eller inandas).
- Alla prover, odlingar av mikroorganismer och inokulerade produkter skall anses infektiösa och behandlas på ett lämpligt sätt. Sterilteknik och sedvanliga försiktighetsåtgärder för att handha den speciella gruppen av bakterier skall iakttas under hela proceduren. Se "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* - Aktuell revidering". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Senaste upplagan", eller de f.n. gällande reglerna i det aktuella landet.
- Använd inte reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Kontrollera före användning att förpackning och komponenter är intakta.
- Använd inte strips som har blivit skadade: deformerade kupoler, etc.
- Öppna ampullerna försiktigt enligt följande:
  - Placera ampullen i ampullskyddet.
  - Håll den skyddade ampullen i vertikal position med en hand (det vita plastlocket uppåt).
  - Tryck ner locket så långt som möjligt.



  ** Modell 1 :*
  - Täck den platta delen av locket med den övre delen av tummen.
  - Applicera tryck med tummen i en rörelse utåt på den platta delen av locket för att bryta av ampulltoppen.



  ** Modell 2 :*
  - Placera tumspetsen på den räfflade delen av locket och pressa framåt för att bryta av ampulltoppen.
- Ta ut ampullen från ampullskyddet och lägg skyddet åt sidan för senare användning.
- Ta försiktigt av locket.

- Data angående prestanda som presenterats har erhållits med hjälp av den metod som anges i denna bipacksedel. Varje ändring i utförandet kan påverka resultaten.
- Tolkningen av testresultaten ska göras med hänsyn till patientens anamnes, provkällan, kolonial och mikroskopisk morfologi hos stammen och, om nödvändigt, resultaten av andra tester som har gjorts, speciellt antibiotikakänslighet.

FÖRVARING

Strips och medier ska förvaras vid 2-8°C fram till det utgångsdatum som anges på förpackningen.

PROVER (INSAMLING OCH PREPARERING)

API 20 A är inte avsett för direktanvändning med kliniska eller andra prover.
Mikroorganismerna som ska identifieras måste först isoleras på ett lämpligt medium i enlighet med standardiserade mikrobiologiska tekniker.

BRUKSANVISNING

Preparering av inokulatet

- Öppna en ampull med API 20 A Medium som angivet i avsnittet "Försiktighetsåtgärder".
- Med en bomullssvabb, ta kolonier som odlats på blodagar under anaeroba förhållanden. Det rekommenderas att använda unga kulturer (18 - 24 timmar gamla) Kontrollera att stammen är ren. (Om nödvändigt, utför en subodling med hjälp av en välisolerad koloni).
- Håll ampullen upprätt och emulgera organismerna genom att rotera bomullsvabben och skrapa den mot sidan av ampullen utan att ta upp den ur suspensionsmediet. Den slutliga turbiditeten ska vara större än eller lika med 3 McFarland. Suspensionen måste användas omedelbart efter beredning. För långsamt växande organismer kan det behövas kolonier från mer än en blodagarplatta för att uppnå denna densitet.
  Obs: För att upprätthålla anaeroba förhållanden, undvik att få in luft i mediet under homogenisering.

Preparering av stripset

- Gör i ordning en inkubationsbox (platta och lock) och tillsätt ca 5 ml destillerat vatten eller avmineraliserat vatten [eller vatten utan tillsatser och kemikalier som kan utveckla gaser (t.ex. Cl_2, CO_2, etc.)] till håligheterna på plattan, för att skapa en fuktig miljö.
- Anteckna referensen för stammen på den förlängda fliken på plattan. (Anteckna inte referensen på locket eftersom detta kan förläggas under arbetet).
- Ta ut ett API 20 strips från dess förpackning och placera det i inkubationsboxen.
- Använd en steril pipett för att inokulera stripset med lösningen i ampullen med API 20 A-medium. Undvik bubbelbildning genom att luta stripset lite framåt.
  - För |GEL| testet, fyll både brunn och kupol.
  - För IND testet, fyll endast brunnen med API 20 A-medium och fyll kupolen med mineralolja för att undvika att indolen avdunstar.
- Placera locket på plattan och inkubera i 24 timmar (± 2 timmar) vid 36°C ± 2°C i en anaerob behållare, kärl eller påse.

- Överskottet API 20 A Medium kan användas för att kontrollera renheten och livskraften hos stammen genom att inokulera 2 plattor med odlingsmedium (den ena inokuleras aerobt och den andra anaerobt).

AVLÄSNING OCH TOLKNING

Avläsning av stripset

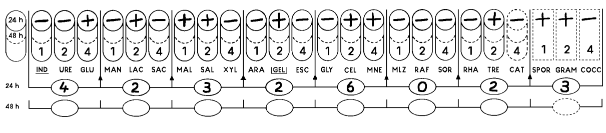
Många anaeroba bakterier uppvisar reaktioner som är tydliga och lätta att avläsa inom 24 timmar, men vissa stammar växer sakta och kan identifieras först efter 48 timmars inkubation.

- Efter inkubationen avläses stripset enligt Avläsnings-tabellen.
- Anteckna alla spontana reaktioner (de som inte behöver tillsats av reagens) på rapportbladet.
- Fastställ vilka tester som behöver tillsats av reagens:
  - BCP som finns i reaktionsmediet kan missfärgas genom reduktion. I så fall, konstatera den sura reaktionen genom tillsats av 1 droppe BCP-reagens i alla mikrobrunnar innehållande kolhydrater. En **gul** eller **gulgrön** färg indikerar en **positiv** reaktion som antecknas på rapportbladet.
  - IND-test: tillsätt en droppe XYL-reagens till skiktet av mineralolja. Blanda med en applikator och vänta i 2-3 minuter. Tillsätt 1 droppe EHR-reagens. Reagenset skall flyta på xylen/mineraloljan (för att inte späda ut färgen i mikrobrunnen). Avläs inom 5 minuter. En **röd** färg indikerar en **positiv** reaktion som ska antecknas på rapportbladet.
  - CAT-test: Katalasbildning konstateras efter att stripset utsatts för luft i 30 minuter. Tillsätt 2 droppar 3 % H_2O_2 till en mikrorbrunn med positiv reaktion. Närvaron av **bubblor** indikerar en **positiv** reaktion som antecknas på rapportbladet.

Tolkning

Identifieringen görs med den **numeriska profilen**.

- Kodning av den numeriska profilen:
  Rapportbladet återger konturerna av API 20 A- stripset med de 20 testerna, plus katalasreaktionen och 3 morfologiska kännetecken: SPOR för sporer (+, –), GRAM (+, –) och COCC för kocker (+, –). På rapportbladet delas testerna upp i grupper om 3, varpå varje grupp tilldelas ett värde 1, 2 eller 4. Genom att addera de värden, som motsvarar positiva reaktioner inom varje grupp, erhålls en 8-siffrig numerisk profil.
- Identifiering:
  Denna utförs med hjälp av databasen (V4.0).
  * med Analytical Profile Index:
    - Leta upp den numeriska profilen i listan över profiler.
  * med ATB ™ instrument, ***mini API*** eller **api*web* ™** programvara för identifiering:
    - Skriv in den 8-siffriga numeriska profilen manuellt via tangentbordet.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

KVALITETSKONTROLL

Medier, strips och reagenser är systematiskt kvalitetskontrollerade vid olika steg i tillverkningen. För de användare som önskar utföra egna tester för kvalitetskontroll av stripset rekommenderas att använda stammen **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** eller en av följande stammar:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Detta resultat kan variera beroende på vilket odlingsmedie som används.

Profiler erhållna efter 24 timmars inkubation efter odling på Columbia fårblodsagar.

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med de lokalt tillämpliga bestämmelserna.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- API 20 A är ett system som endast är avsett för biokemisk identifiering av de anaeroba bakterier som är inkluderade i databasen (se Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel). Systemet kan inte användas till identifiering av andra mikroorganism eller till att utesluta deras närvaro.
- Endast rena kulturer från en enda organism bör användas.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Intervallet för de förväntade resultaten för de olika biokemiska reaktionerna framgår av Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel.

PRESTANDA

2968 insamlade stammar och stammar av olika ursprung tillhörande arter inkluderade i databasen testades:

- 89% av stammarna blev korrekt identifierade (med eller utan kompletterande tester).
- 5,8% av stammarna identifierades inte.
- 5,2% av stammarna blev felidentifierade.

AVFALLSHANTERING

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser, liksom av andra kontaminerade engångsmaterial ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.

Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfall och avloppsprodukter enligt typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

AVLÄSNINGSTABELL

TESTER	AKTIVA INGREDIENSER	MÄNGD (mg/kup.)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTAT	
				NEGATIVT	POSITIVT
				XYL - blandning / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-tryptofan	0,98	INDol produktion	gul	L-tryptofan
URE	urea	0,648	UREase	gul-orange	röd
				BCP	
GLU	D-glucos	1,96	surgörning (GLUkos)	lila	gul / gulgrön
MAN	D-mannitol	1,96	surgörning (MANnitol)		
LAC	D-laktos (av nöt)	1,96	surgörning (LACtos)		
SAC	D-sackaros (sukros)	1,86	surgörning (SACkaros)		
MAL	D-maltos	1,96	surgörning (MALtos)		
SAL	salicin	1,64	surgörning (SALicin)		
XYL	D-xylos	1,64	surgörning (XYLos)		
ARA	L-arabinos	1,64	surgörning (ARAbinos)		
|GEL|	gelatin (av nöt)	0,6	hydrolys (proteas) (GELatin)	ingen diffusion av pigment (1)	diffusion av svart pigment (1)
ESC	esculin järncitrat	0,36 0,11	hydrolys (ß-glucosidas) (ESCulin)	gul (2)	brunsvart (2)
				i UV (365 nm)	
				fluorescens	ingen fluorescens
				BCP	
GLY	glycerol	1,82	surgörning (GLYcerol)	lila	gul/gulgrön
CEL	D-cellobios	1,86	surgörning (CELlobios)		
MNE	D-mannos	1,96	surgörning (ManNos)		
MLZ	D-melezitos	1,96	surgörning (MeLeZitos)		
RAF	D-raffinos	2,18	surgörning (RAFfinos)		
SOR	D-sorbitol	2,18	surgörning (SORbitol)		
RHA	L-rhamnos	1,96	surgörning (RHAmnos)		
TRE	D-trehalos	1,96	surgörning (TREhalose)		
				Efter 30 min i luft H_2O_2 i en positiv brunn	
CAT		–	KATalas	inga bubblor	bubblor
SPOR		–	sporer	frånvaro	närvaro
GRAM		–	Gram-reaktion	rosa	violett
COCC		–	morfologi	stav	kock

(1) Vid inkubation i ett runt kärl diffunderar pigmentet endast i den nedre delen av brunnen.

(2) Den brunsvarta färgen utvecklas ibland endast efter att stripset har exponerats för luft: detta bör beaktas under avläsningen.
En svart färg kan bero på produktionen av järnsulfid (FeS) då H_2S reagerar med järncitratet. Detta indikerar inte esculinhydrolys. De två kan urskiljas genom det faktum att järnsulfid bildar en svart fällning i botten av brunnen, medan esculinhydrolys resulterar i ett brunsvart område i övre delen av brunnen. Om brunnen är fullständigt svart, och i fall av tvekan, bör testet avläsas i UV-ljus för att konstatera eventuell fluorescens.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Mängden som anges kan justeras beroende på titern hos de använda råmaterialen.
- Vissa kupoler innehåller produkter av animaliskt ursprung, speciellt peptoner.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Tryckt i Frankrike

api® 20 A

IVD

System til identifikation af anaerobe bakterier.

RESUMÉ OG FORKLARING

API 20 A-systemet giver mulighed for, hurtigt og let, at udføre 21 tests til biokemisk identifikation af anaerobe bakterier. Andre tests, såsom kolonimæssig og mikroskopisk morfologi, Gramfarvning osv., bør udføres, og resultaterne bruges til at bekræfte eller komplettere identifikationen. Den komplette liste over de organismer, som det er muligt at identificere med dette system, er angivet i Identifikationstabellen nederst på denne indlægsseddel.

PRINCIP

API 20 A strip'en består af 20 brønde indeholdende dehydrerede substrater. Disse brøndeinokuleres med en bakteriesuspension, som rekonstituerer mediet. Under inkubationen danner metabolismen farveforandringer, der enten er spontane eller afsløres ved tilsætning af reagenser.
Reaktionerne aflæses i henhold til Aflæsningstabellen, og identifikationen opnås ved opslag i Det Analytiske Profilindeks eller ved anvendelse af identifikations-softwaren.

KITTETS INDHOLD (Kit til 25 tests)

- 25 API 20 A strips
- 25 inkubationsæsker
- 25 ampuller med API 20 A Medium
- 25 resultatark
- 1 indlægsseddel

SAMMENSÆTNING

Strips

Sammensætningen af API 20 A strip'en er angivet i Aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.

Medium

API 20 A Medium 4 ml	Tryptikase	5 g
	Gærekstrakt	5 g
	Natriumklorid	2,5 g
	L-tryptofan	0,2 g
	L-cystin	0,4 g
	Hæmin (svine-)	0,005 g
	Vitamin K_1	0,01 g
	Natriumsulfit	0,1 g
	Demineraliseret vand	til i alt1000 ml
	pH 6,9 - 7,3	

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER

Reagenser / instrument

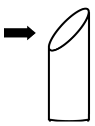
- Mineralsk olie (Ref. 70 100)
- Reagenser: BCP (Ref. 70 510)
  EHR (Ref. 70 520)
  XYL (Ref. 70 530)
- McFarland Standard (Ref. 70 900)
- API 20 A Analytisk Profilindeks (Ref. 20.390), ***apiweb***™ identifikationssoftware (Ref. 40 011), ATB™ instrument eller ***mini API*** (spørg bioMérieux)
- Hydrogenperoxid (3 %)

Materiale

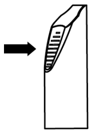
- Vatpinde
- Pipetter eller PSIpetter
- Generator til anaerob atmosfære
- Ampulstativ
- Ampulbeskytter
- Almindeligt udstyr til mikrobiologi inklusiv en ultraviolet lampe (365 nm)

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- **Til *in-vitro* diagnostisk brug og mikrobiologisk kontrol.**
- **Kun til professionel brug.**
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgyldig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen overførbare patogene stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Alle prøver, bakteriekulturer og podede produkter skal betragtes som smittefarlige og håndteres i overensstemmelse hermed. Der skal anvendes aseptisk teknik og sædvanlige forholdregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – Gældende revision". For yderligere forsigtighedsforanstaltninger ved håndtering henvises til "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - seneste udgave", eller til de bestemmelser, der aktuelt anvendes i det enkelte land.
- Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Kontrollér inden brug, at emballage og komponenter er intakte.
- Brug ikke strips, der er beskadiget: deformerede brønde, ...
- Åbn forsigtigt ampullerne som følger:
  - Anbring ampullen i ampulbeskytteren.
  - Hold den beskyttede ampul i den ene hånd i lodret stilling (med den hvide plasthætte øverst).
  - Tryk hætten så langt ned som muligt.



** Model 1 :*
  - Tildæk den flade del af hætten med spidsen af tommelfingeren.
  - Tryk med tommelfingeren udefter på det nederste af den flade del af hætten for at knække toppen af ampullen



** Model 2 :*
  - Anbring spidsen af tommelfingeren på den hættens rillede del og tryk udefter for at knække toppen af ampullen
- Tag ampullen ud af ampulbeskytteren og læg beskytteren til side til senere brug.
- Tag forsigtigt hætten af.

- De fremlagte præstationsdata blev fundet ved anvendelse af den procedure, der er angivet på denne indlægsseddel. Enhver ændring eller modifikation af denne procedure kan påvirke resultaterne.
- Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie, prøvens kilde, stammens kolonimæssige og mikroskopiske morfologi, samt, om nødvendigt, resultaterne af eventuelle andre udførte prøver, specielt de antibakterielle følsomhedsmønstre.

OPBEVARINGSFORHOLD

Strips og medier skal opbevares ved 2-8°C indtil den udløbsdato, der er angivet på emballagen.

PRØVER (INDSAMLING OG PRÆPARERING)

API 20 A må ikke bruges direkte sammen med kliniske eller andre prøver.
De mikroorganismer, der skal identificeres, skal først isoleres på et egnet dyrkningsmedium i overensstemmelse med normale mikrobiologiske teknikker.

BRUGSANVISNING

Præparering af inokulum

- Åbn en ampul med API 20 A Medium som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler".
- Indsaml ved hjælp af en vatpind al den vækst, der er opnået på blodagar under anaerobe forhold. Det anbefales at anvende unge kulturer (18-24 timer gamle). Kontrollér at stammen er ren. Foretag om nødvendigt en subkultur ved hjælp af en velisoleret koloni.
- Hold ampullen lodret og emulgér organismerne ved at rotere vatpinden og gnide den mod siden af ampullen uden at tage den op af suspensionsmediet. Den endelige turbiditet skal være større end eller lig med 3 McFarland. Denne suspension skal anvendes umiddelbart efter præpareringen. Langsomt voksende organismer kan kræve mere end en enkelt blodagarplade for at opnå denne inokulumdensitet

  BEMÆRK: For at opretholde anaerobe forhold, må man undgå at indføre luft i mediet under homogeniseringen.

Præparering af strip'en

- Præparer en inkubationsæske (bakke og låg) og fordel cirka 5 ml destilleret eller demineraliseret vand [eller eventuelt vand uden tilsætningsstoffer eller kemikalier, der kan frigive gasser (f.eks. Cl_2, CO_2, etc.)] i bakkens fordybninger for at skabe en fugtig atmosfære.
- Notér stammereferencerne på bakkens forlængede klap. (Notér ikke referencerne på låget, da det kan blive flyttet under proceduren).
- Tag en API 20 A strip ud af dens emballage og anbring den i inkubationsbakken.
- Ved hjælp af en steril pipette inokuleres strip'en med suspensionen i ampullen med API 20 A Mediet, idet bobledannelse undgås og strip'en hældes let forover.
  - Angående |GEL| -testen fyldes både røret og brønden.
  - Angående IND-testen fyldes kun røret med API 20 A Medium, og brønden fyldes med mineralsk olie for at indolet ikke skal fordampe.
- Læg låget på bakken og inkubér i 24 timer (± 2 timer) ved 36°C ± 2°C i et anaerobt kammer, beholder eller pose.

- Det overskydende API 20 A Medium kan anvendes til at kontrollere stammens renhed og levedygtighed ved at inokulere 2 plader med dyrkningsmedium (den ene inokuleret aerobt og den anden anaerobt).

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

Aflæsning af strip'en

Mange anaerobe bakterier frembringer reaktioner, der er klare og lette at aflæse inden for 24 timer, men nogle stammer vokser langsomt og kan først identificeres efter 48 timers inkubation.

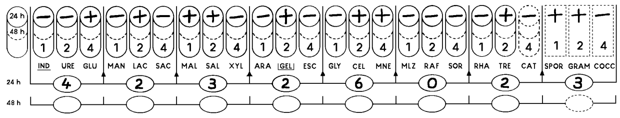
- Efter inkubation aflæser du din strip ved at se i aflæsningstabellen.
- Notér alle spontane reaktioner (de der ikke kræver tilsætning af reagenser) på resultatarket.
- Find frem til de tests, der kræver tilsætning af reagenser:
  - Det BCP, der er til stede i reaktionsmediet, kan misfarves ved reduktion. Find i så fald frem til acidifikationsreaktionen ved at tilsætte 1 dråbe BCP-reagens til alle mikrorør, der indeholder kulhydrater. En **gul** eller **gulgrøn** farve angiver, at en **positiv** reaktion skal noteres på resultatarket.
  - IND-test : tilsæt 1 dråbe XYL-reagens til laget af mineralsk olie. Bland ved hjælp af en applikatorpind og lad det stå 2-3 minutter. Tilsæt 1 dråbe EHR-reagens. Reagenset skal flyde på xylen/mineralolien (så det ikke fortynder farven i mikrorøret). Aflæs i løbet af 5 minutter. En **rød** farve er tegn på en **positiv** reaktion, som skal noteres på resultatarket.
  - CAT-test : Katalaseproduktion bestemmes, efter at strips har været udsat for luft i 30 minutter. Tilsæt 2 dråber 3 % H_2O_2 til et mikrorør med positiv reaktion. Forekomst af **bobler** er tegn på en **positiv** reaktion, som skal noteres på resultatarket.

Fortolkning

Identifikation opnås med den **numeriske profil**.

- Bestemmelse af den numeriske profil :
  Resultatarket gengiver omridset af API 20 A-strip'en med dens 20 tests plus katalasereaktionen og 3 morfologiske karakteristika : SPOR for spore (+, –), GRAM (+, –) og COCC for kok (+, –). På resultatarket er testene opdelt i grupper på 3, og en værdi på 1, 2 eller 4, er angivet for hver. Ved at addere de værdier, der svarer til positive reaktioner inden for hver gruppe, opnås et 8-cifret profilnummer.
- Identifikation :
  Denne udføres ved hjælp af databasen (V4.0)
  * med Analytisk Profilindeks :
  - Slå den numeriske profil op i fortegnelsen over profiler.

  * med ATB™ instrument, ***mini API*** eller **api*web***™ identifikationssoftwaren:
  - Indtast den 8-cifrede numeriske profil manuelt via tastaturet.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

KVALITETSKONTROL

Strips, medier og reagenser kontrolleres systematisk på forskellige trin under fremstillingen. For de brugere, der ønsker at udføre deres egne kvalitetskontroltests med strip'en er det bedst at anvende stammen **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** eller en af følgende stammer:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Dette resultat kan variere afhængigt af det anvendte dyrkningsmedium.

Profiler opnået efter 24 timers inkubation efter dyrkning på Columbia fåreblod-agar.

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

- API 20 A-systemet er udelukkende beregnet til biokemisk identifikation af de anaerobe bakterier, der er medtaget i databasen (se Identifikationtabel nederst på denne indlægsseddel). Det kan ikke benyttes til at identificere nogen andre mikroorganismer eller til at udelukke, at de er til stede.
- Der bør kun anvendes rene kulturer af en enkelt organisme.

FORVENTEDE RESULTATER

Se Identifikationsoversigten i slutningen af denne indlægsseddel for forventede resultater for de forskellige biokemiske reaktioner.

PRÆSTATION

2968 indsamlingsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:

- 89 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
- 5,8 % af stammerne blev ikke identificeret.
- 5,2 % af stammerne blev fejlidentificeret.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Bortskaf alle brugte eller ubrugte komponenter samt eventuelle andre kontaminerede materialer efter procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets type og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

AFLÆSNINGSTABEL

TESTS	AKTIVE INDHOLDSSTOFFER	MÆNGDE (mg/brønd)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTATER NEGATIVE	POSITIVE
<u>IND</u>	L-tryptofan	0.98	INDoldannelse	<u>XYL - bland / 2-3 min + EHR / 5 min</u> gul	rød
URE	urea	0.648	UREase	gul-orange	rød
GLU MAN LAC SAC MAL SAL XYL ARA	D-glukose D-mannitol D-laktose (okse-) D-sakkarose (sucrose) D-maltose salicin D-xylose L-arabinose	1.96 1.96 1.96 1.86 1.96 1.64 1.64 1.64	acidification (GLUkose) acidification (MANnitol) acidification (LACtose) acidification (SACcharose) acidification (MALtose) acidification (SALicin) acidification (XYLose) acidification (ARAbinose)	BCP purpur	gul til gulgrøn
GEL	gelatine (okse-oprindelse)	0.6	hydrolyse (protease) (GELatine)	ingen diffusion af pigment (1) gul (2)	diffusion af sort pigment (1) brun-sort (2)
ESC	esculin ferricitrat	0.36 0.11	hydrolyse (ß-glukosidase) (ESCulin)	<u>i UV (365 nm)</u> fluorescens	ingen fluorescens
GLY CEL MNE MLZ RAF SOR RHA TRE	glycerol D-cellobiose D-mannose D-melezitose D-raffinose D-sorbitol L-rhamnose D-trehalose	1.82 1.86 1.96 1.96 2.18 2.18 1.96 1.96	acidification (GLYcerol) acidification (CELlobiose) acidification (ManNosE) acidification (MeLeZitose) acidification (RAFfinose) acidification (SORbitol) acidification (RHAmnose) acidification (TREhalose)	BCP purpur	gul til gulgrøn
CAT		–	CATalase	Efter 30 min i luft <u>H_2O_2 i et positivt rør</u> ingen bobler	bobler
SPOR		–	sporer	mangler	til stede
GRAM		–	Gramreaktion	lyserød	violet
COCC		–	morfologi	stav	coc

(1) Ved inkubation I en rund beholder diffunderer pigmentet kun i den nederste del af røret.
(2) Den brun-sorte farve udvikles sommetider først efter, at strip'en har været udsat for luft: Dette skal tages i betragtning ved aflæsning.
En sort farve kan skyldes dannelse af ferrisulfid (FeS), fordi H_2S reagerer med ferricitratet. Dette angiver ikke esculin-hydrolyse. De to kan skelnes fra hinanden ved, at ferrisulfidet danner et sort bundfald I bunden af røret, hvorimod esculin-hydrolyse resulterer i et brun-sort område øverst i røret. Hvis røret er helt sort, samt i tvivlstilfælde, skal testen aflæses ved undersøgelse for fluorescens i UV lys.


ESC +
H_2S –


ESC +
H_2S –


ESC +
H_2S –

- De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.
- Visse brønde indeholder produkter af animalsk oprindelse, specielt peptoner.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Trykt i Frankrig

api® 20 A

IVD

Zestaw do identyfikacji bakterii beztlenowych

WPROWADZENIE

System API 20 A zawiera 21 testów umożliwiających w sposób szybki i łatwy biochemiczną identyfikację bakterii beztlenowych. Inne testy takie jak makro- i mikroskopowa morfologia, barwienie metodą Grama itd., należy wykonać, a ich wynik powinien potwierdzić lub uzupełnić identyfikację. Pełna lista organizmów, które można zidentyfikować przy użyciu tego systemu jest podana na końcu niniejszej instrukcji w Tabeli Identyfikacyjnej.

ZASADA DZIAŁANIA

Paski API 20 A składają się z 20 mikroprobówek zawierających odwodnione substraty. Testy te są napełniane zawiesinami bakteryjnymi, co odtwarza podłoża. Procesy metaboliczne zachodzące podczas inkubacji powodują zmiany koloru, które są albo spontaniczne, lub wywołane przez dodanie odczynników.
Po odczytaniu reakcji według Tabeli Odczytów, otrzymuje się identyfikację przez porównanie z Książką Kodów lub stosując program komputerowy.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (Zestaw zawiera 25 testów)

- 25 pasków API 20 A
- 25 komór inkubacyjnych
- 25 ampułek API 20 A Medium
- 25 kart wyników
- 1 instrukcja

SKŁAD

Paski

Skład paska API 20 A podano w tej instrukcji w Tabeli Odczytów.

Podłoże

API 20 A Medium 4 ml	Trypticase	5 g
	Wyciąg drożdżowy	5 g
	Chlorek sodu	2.5 g
	L-tryptofan	0.2 g
	L-cystyna	0.4 g
	Hemina (wieprzowa)	0.005 g
	Witamina K_1	0.01 g
	Siarczyn sodu	0.1 g
	Woda demineralizowana	do 1000 ml
	pH 6.9-7.3	

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki / Wyposażenie

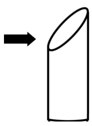
- Olej mineralny (Ref. 70 100)
- Odczynniki : BCP (Ref. 70 510)
  EHR (Ref. 70 520)
  XYL (Ref. 70 530)
- Standard McFarland'a (Ref. 70 900)
- Książka Kodowa dla API 20 A (Ref. 20 390) lub oprogramowanie komputerowe do identyfikacji **api*web* ™** (Ref. 40 011), aparaty ATB **™** lub ***mini API*** (skontaktuj się z bioMérieux)
- Woda utleniona (3 %)

Materiały

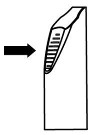
- Wymazówki
- Pipety lub PSIpety
- Generator atmosfery beztlenowej
- Statyw do ampułek
- Osłona na ampułkę
- Wyposażenie zazwyczaj stosowane w laboratorium mikrobiologicznym włączając w to lampę UV (365 nm)

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Do diagnostyki *in vitro* i kontroli mikrobiologicznej.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z " CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*; *Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Przed użyciem sprawdź, czy opakowania poszczególnych składników są nienaruszone.
- Nie używać pasków uszkodzonych : odkształcone studzienki, itd.
- Ampułki otwierać ostrożnie w następujący sposób:
  - Umieścić ampułkę w osłonie.
  - Trzymać osłoniętą ampułkę w jednej ręce w pozycji pionowej (białą plastikową nasadką do góry).
  - Wcisnąć nasadkę do dołu tak daleko jak to możliwe.



    * *Model 1 :*
    - Przykryć spłaszczoną końcówkę nasadki górną częścią kciuka.
    - Skierować nacisk kciuka od siebie na spłaszczoną część nasadki tak, aby odłamać końcówkę ampułki znajdującą się wewnątrz nasadki.



    * *Model 2 :*
    - Umieścić kciuk na wyżłobionej części nasadki i nacisnąć od siebie tak, aby odłamać końcówkę ampułki znajdującą się wewnątrz nasadki.
  - Wyjąć ampułkę z osłony, którą należy odłożyć do kolejnego użycia.
  - Ostrożnie zdjąć nasadkę.

- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów, szczególnie lekowrażliwości.

PRZECHOWYWANIE

Paski powinny być przechowywane w temperaturze 2-8°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

MATERIAŁ DO BADAŃ (POBIERANIE I OPRACOWANIE)

Paski API 20 A nie są przeznaczone do bezpośrednich badań materiału klinicznego lub innych próbek.
Identyfikowany mikroorganizm musi być najpierw wyizolowany na właściwych podłożach hodowlanych zgodnie ze standardowymi technikami mikrobiologicznymi.

SPOSÓB WYKONANIA

Przygotowanie inokulum

- Otworzyć ampułkę API 20 A Medium w sposób opisany w paragrafie "Środki ostrożności".
- Używając wymazówki zebrać całą hodowlę otrzymaną na agarze krwawym w warunkach beztlenowych. Zaleca się używanie młodych hodowli (18-24 godzinnych). Sprawdzić czy hodowla jest czysta. (Jeśli to konieczne założyć hodowlę wtórną z dobrze wyizolowanej kolonii).
- Trzymać ampułkę pionowo i rozprowadzać drobnoustroje przez obracanie wymazówką i wyciskanie jej o ścianki ampułki, bez wyciągania na zewnątrz. Ostateczne zmętnienie powinno być większe lub równe 3 w skali McFarland'a. Zawiesinę tę użyć natychmiast po sporządzeniu. Dla wolnorosnących bakterii może być konieczna więcej niż jedna płytka krwawa, aby osiągnąć takie zmętnienie.
  UWAGA : Aby zachować warunki beztlenowe należy unikać wprowadzania powietrza podczas homogenizacji.

Przygotowanie paska

- Przygotować komorę inkubacyjną (podstawkę i pokrywkę) i nanieść około 5 ml destylowanej lub demineralizowanej wody [lub jakiejkolwiek wody bez dodatków lub związków chemicznych, z których mogą wydzielać się gazy (np. Cl_2, CO_2, itd.)] na podstawkę w kształcie plastra miodu, w celu wytworzenia komory wilgotnej.
- Zanotować numer szczepu na wydłużonej części podstawki. (Nie notować numeru na pokrywce, ponieważ może ona ulec zamianie w trakcie badań).
- Wyjąć pasek API 20 A z jego opakowania i umieścić na podstawce.
- Używając jałowej pipety, nanieść na pasek zawiesinę z ampułki API 20 A Medium, unikając tworzenia pęcherzyków, przechylając pasek lekko do przodu.
  - Dla testu |GEL| napełnić zarówno probówkę jak i wgłębienie.
  - Dla testu IND napełnić probówkę API 20 A Medium, a wgłębienie olejem mineralnym, aby zapobiec wyparowaniu indolu.
- Przykryć podstawkę pokrywką i inkubować 24 godziny (± 2godziny) w 36°C ± 2°C w komorze beztlenowej, pojemniku lub saszetce.
- Nadmiar API 20 A Medium można użyć do sprawdzenia czystości i przeżywalności szczepu poprzez posianie zestawu 2 płytek (jedną inkubować w warunkach tlenowych, a drugą w beztlenowych).

ODCZYT I INTERPRETACJA

Odczyt paska

Wiele bakterii beztlenowych daje wyniki jednoznaczne i łatwe do odczytu po 24 godzinach, jednakże niektóre szczepy rosną wolno i mogą być zidentyfikowane dopiero po 48 godzinach inkubacji.

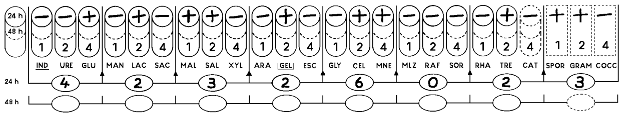
- Po inkubacji odczytać pasek korzystając z Tabeli Odczytu.
- Zanotować wyniki wszystkich spontanicznych reakcji (tych nie wymagających dodania odczynników) na karcie wyników.
- Odczytać testy wymagające dodania odczynników:
  - BCP występujący w podłożu reakcyjnym może być odbarwiony przez jego redukcję. W tym przypadku reakcję zakwaszenia należy uwidocznić poprzez dodanie 1 kropli odczynnika BCP do wszystkich probówek zawierających węglowodany. **Żółty** lub **żółto-zielony** kolor wskazuje na wynik **pozytywny**, który należy zanotować na karcie wyników.
  - Test IND: dodać 1 kroplę odczynnika XYL do warstwy oleju mineralnego. Wymieszać przy użyciu pałeczki i pozostawić na 2-3 minuty. Dodać 1 kroplę odczynnika EHR. Odczynnik powinien rozpłynąć się po ksylenie/oleju mineralnym (tak aby nie rozjaśniać koloru w mikroprobówce). Odczytu dokonać w ciągu 5 minut. **Czerwony** kolor wskazuje na reakcję **pozytywną**, którą należy zanotować w karcie wyników.
  - Test CAT : Wytwarzanie katalazy można oznaczać po 30 minutach od wystawienia paska na powietrze. Dodać 2 krople 3 % H_2O_2 do probówki z reakcją pozytywną. Pojawienie się **pęcherzyków** wskazuje na wynik **pozytywny**, co należy zanotować na karcie wyników.

Interpretacja

Identyfikację otrzymuje się z **profilu numerycznego**.

- Określanie profilu numerycznego:
  Karta wyników odzwierciedla wygląd paska API 20 A z jego 20 testami, plus reakcja katalazy i 3 cechy morfologiczne : SPOR dla przetrwalników (+, –), GRAM (+, –) i COCC dla ziarniaka (+, –). Na karcie wyników testy podzielone są na grupy po 3, każdy odpowiednio o wartości 1, 2 lub 4. Przez dodanie do siebie wartości odpowiadających pozytywnym reakcjom w obrębie każdej grupy otrzymuje się 8 cyfrowy profil numeryczny.
- Identyfikacja:
  Uzyskuje się ją używając bazy danych (V4.0)
  * z Książki Kodowej:
  - Odszukać właściwy profil numeryczny na liście profili.

  * z oprogramowania komputerowego aparatów ATB ™, ***mini API*** lub z **api*web*** **™**:
  - Wprowadzić 8 cyfrowy profil numeryczny manualnie przy użyciu klawiatury.



4 232 602 3 *Clostridium septicum*

KONTROLA JAKOŚCI

Podłoża, paski i odczynniki są systematycznie poddawane kontroli jakości na różnym poziomie procesu produkcji. Dla tych użytkowników, którzy chcą prowadzić swoją własną kontrolę pasków zaleca się szczep wzorcowy **1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124** lub jeden z następujących szczepów:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1.	**–**	**–**	**+**	**–**	**+**	**+**	**+**	**–**	**–**	**–**	**+***	**–**	**+***	**–**	**+**	**–**	**–**	**v***	**–**	**+**	**–**
2.	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3.	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Wynik ten może się różnić w zależności od zastosowanego podłoża.

Profil otrzymywany po 24 godzinach inkubacji hodowli na agarze Columbia z krwią baranią.

Użytkownik jest zobowiązany do prowadzenia kontroli jakości zgodnie z lokalnymi przepisami.

OGRANICZENIA METODY

- System API 20 A służy jedynie do biochemicznej identyfikacji tych bakterii beztlenowych, które są włączone do bazy danych (patrz Tabela Identyfikacyjna na końcu instrukcji). Nie może być używany do identyfikacji innych mikroorganizmów lub wykluczania ich obecności.
- Należy używać tylko czysto wyizolowanych bakterii.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WYNIKÓW

W Tabeli Identyfikacyjnej na końcu instrukcji sprawdzić zakres spodziewanych wyników dla różnych testów biochemicznych.

OCENA TESTU

Przebadano 2968 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych:

- 89 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
- 5,8 % szczepów nie zidentyfikowano.
- 5,2 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Zużytych i niezużytych odczynników, jak również zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

TABELA ODCZYTÓW

TEST	AKTYWNE SKŁADNIKI	STĘŻENIE (mg/probówka)	REAKCJE/ENZYMY	WYNIKI NEGATYWNY	WYNIKI POZYTYWNY
				XYL - mieszać / 2-3 min + EHR / 5 min	
IND	L-tryptofan	0.98	wytwarzanie indolu	żółty	czerwony
URE	mocznik	0.648	ureaza	żółto-pomarańczowy	czerwony
				BCP	
GLU	D-glukoza	1.96	zakwaszenie (glukoza)	purpurowy	żółty / żółto-zielony
MAN	D-mannitol	1.96	zakwaszenie (mannitol)		
LAC	D-laktoza (wołowa)	1.96	zakwaszenie (laktoza)		
SAC	D-sacharoza	1.86	zakwaszenie (sacharoza)		
MAL	D-maltoza	1.96	zakwaszenie (maltoza)		
SAL	salicyna	1.64	zakwaszenie (salicyna)		
XYL	D-ksyloza	1.64	zakwaszenie (ksyloza)		
ARA	L-arabinoza	1.64	zakwaszenie (arabinoza)		
|GEL|	żelatyna (wołowa)	0.6	hydroliza (proteaza) (żelatyna)	brak dyfuzji pigmentu (1)	dyfuzja czarnego pigmentu (1)
ESC	eskulina cytrynian żelaza	0.36 0.11	hydroliza (ß-glukozydaza) (eskulina)	żółty (2)	brązowo-czarny (2)
				w UV (365 nm)	
				fluorescencja	brak fluorescencji
				BCP	
GLY	glicerol	1.82	zakwaszenie (glicerol)	purpurowy	żółty / żółto-zielony
CEL	D-celobioza	1.86	zakwaszenie (celobioza)		
MNE	D-mannoza	1.96	zakwaszenie (mannoza)		
MLZ	D-melezytoza	1.96	zakwaszenie (melezytoza)		
RAF	D-rafinoza	2.18	zakwaszenie (rafinoza)		
SOR	D-sorbitol	2.18	zakwaszenie (sorbitol)		
RHA	L-ramnoza	1.96	zakwaszenie (ramnoza)		
TRE	D-trehaloza	1.96	zakwaszenie (trehaloza)		
				Po 30 min na powietrzu H_2O_2 w probówce pozytywnej	
CAT		–	katalaza	brak pęcherzyków	pęcherzyki
SPOR		–	przetrwalniki	nieobecność	obecność
GRAM		–	barwienie metodą Grama	różowy	fioletowy
COCC		–	morfologia	pałeczki	ziarniaki

(1) Podczas inkubacji w okrągłym pojemniku pigment dyfunduje wyłącznie w niższej części probówki.

(2) Brązowo-czarny kolor pojawia się czasami tylko po wystawieniu paska na działanie powietrza: należy wziąć to pod uwagę podczas odczytu.
Czarny kolor może pojawić się na skutek wytworzenia siarczku żelaza (FeS) po reakcji H_2S z cytrynianem żelaza. Nie należy traktować tego jako hydrolizę eskuliny. Przypadki te można rozróżnić dzięki temu, że siarczek żelaza tworzy czarny osad na dnie mikroprobówki, podczas gdy w wyniku hydrolizy eskuliny pojawia się brązowo-czarne zabarwienie na górze probówki. Jeśli mikroprobówka jest całkowicie zaczerniona i w przypadku wątpliwości, należy odczytać test badając fluorescencję w świetle UV.


ESC +
H_2S –


ESC – / +
H_2S – / +


ESC –
H_2S +

- Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.
- Niektóre mikroprobówki zawierają produkty pochodzenia zwierzęcego,zwłaszcza peptony.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Wydrukowano we Francji

METHODOLOGIE / PROCEDURE / METHODIK / TECNICA / PROCEDIMENTO / ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ / METOD / METODE / METODYKA

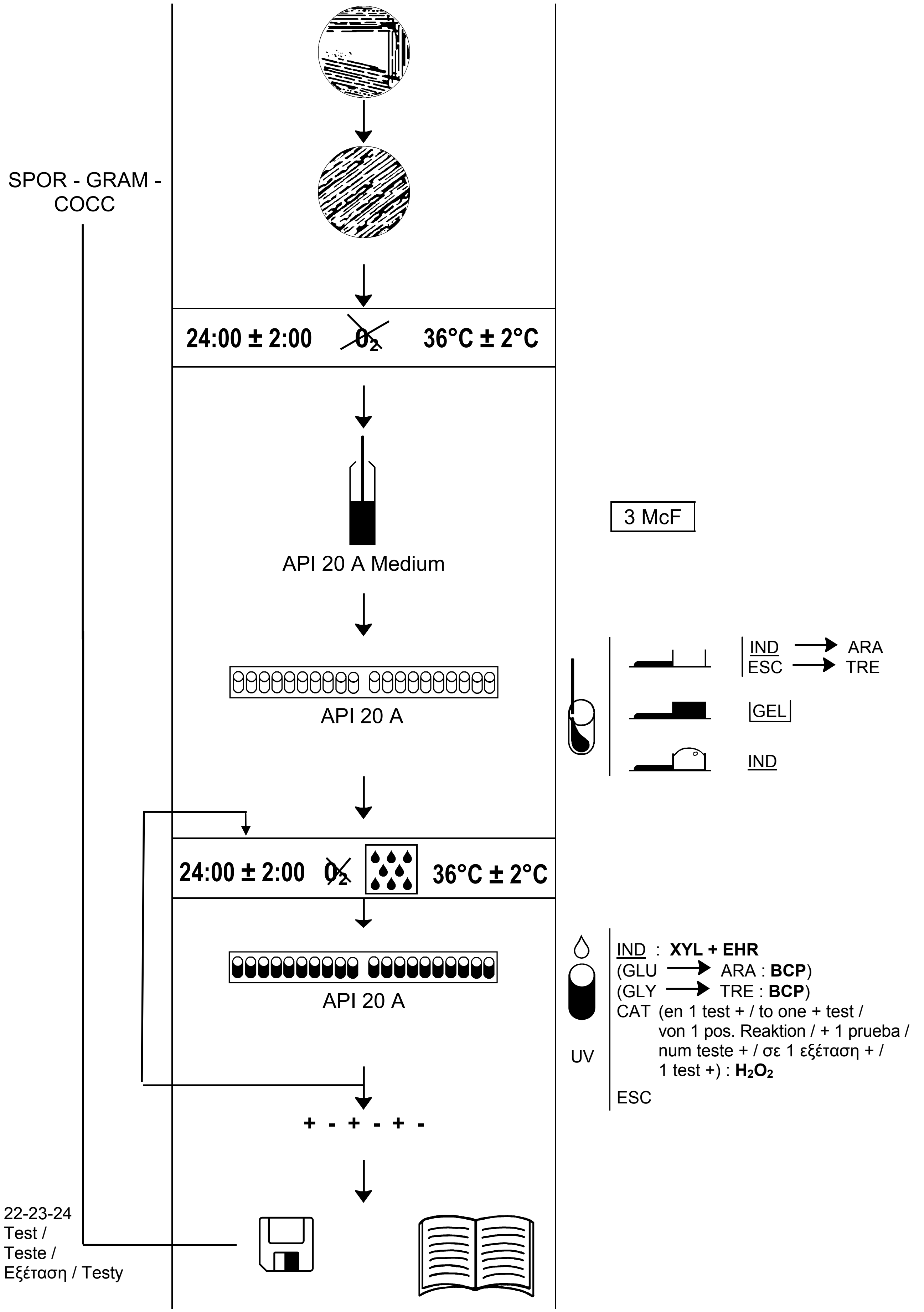


TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO / ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIERINGSTABELL / IDENTIFIKATIONSTABEL / TABELA IDENTYFIKACYJNA

% de réactions positives après 24-48 h à 36°C ± 2°C / % of reactions positive after 24-48 hrs. at 36°C ± 2°C /
% der positiven Reaktionen nach 24-48 Std. bei 36°C ± 2°C / % de las reacciones positivas después de 24-48 H a 36°C ± 2°C /
% di reazioni positive dopo 24-48 ore a 36°C ± 2°C / % de reacções positivas após 24-48 horas a 36°C ± 2°C /
% θετικών αντιδράσεων μετά από 24-48 ώρες στους 36°C ± 2°C / % positiva reaktioner efter 24-48 timmar vid 36°C ± 2°C /
% positive reaktioner efter 24-48 timer ved 36°C ± 2°C / % pozytywnych reakcji po 24-48 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 A V4.0	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT	SPOR	GRAM	COCC
Actinomyces israelii	0	0	99	99	89	99	99	99	99	97	0	30	25	90	90	38	82	40	45	90	1	0	100	0
Actino.meyeri/odontolyticus	1	0	99	1	72	98	93	31	62	37	5	5	50	0	0	0	10	1	15	0	2	0	100	1
Actinomyces naeslundii	0	5	99	26	72	96	94	55	0	0	16	21	47	50	70	5	60	16	0	46	11	0	99	0
Actinomyces viscosus 1	0	0	99	0	65	99	99	22	0	0	7	1	60	17	95	0	99	0	0	5	90	0	100	0
Actinomyces viscosus 2	0	0	60	0	0	60	0	5	0	0	0	0	0	0	60	0	0	0	0	0	80	0	100	0
Bacteroides caccae	0	0	100	0	100	100	75	0	100	100	0	90	10	0	100	25	100	0	60	70	0	0	0	0
Bacteroides distasonis	0	0	99	0	99	99	93	73	86	27	1	80	4	60	95	65	98	1	80	70	77	0	0	0
Bacteroides fragilis	0	0	99	0	99	99	99	0	99	0	1	99	1	41	99	0	99	0	2	0	96	0	0	1
Bac.ovatus/thetaiotaomicron	80	1	99	7	99	99	99	28	99	99	3	95	1	65	99	23	99	2	99	83	65	0	0	0
Bacteroides stercoris/eggerthii	99	0	99	1	92	25	90	10	75	70	10	65	0	30	99	0	30	0	65	0	50	0	0	0
Bacteroides uniformis	91	0	99	0	99	99	95	97	99	95	3	99	0	99	99	1	98	0	42	1	9	0	0	0
Bacteroides ureolyticus	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacteroides vulgatus	0	0	99	0	99	98	98	0	99	92	5	23	1	8	99	0	94	0	77	3	2	1	0	1
Bifidobacterium spp 1	0	0	99	30	99	99	99	70	60	75	2	40	0	40	70	20	91	25	0	35	0	0	99	0
Bifidobacterium spp 2	0	0	99	99	99	99	99	99	90	80	1	75	45	99	99	85	100	75	50	99	0	0	99	0
Clostridium baratii	0	0	99	8	75	99	80	99	0	0	0	75	54	99	99	0	0	8	8	8	0	99	99	0
Clostridium beijerinckii/butyricum	1	0	99	47	95	99	98	97	97	80	10	76	54	95	95	20	80	31	25	90	0	100	89	0
Clostridium bifermentans	90	0	75	0	0	0	70	10	0	0	90	6	5	0	50	0	0	4	0	0	0	97	99	0
Cl.botulinum/sporogenes	20	0	55	0	0	1	72	0	0	0	99	20	1	1	1	0	0	1	0	40	0	99	99	0
Clostridium cadaveris	98	0	87	0	0	6	6	0	0	1	84	0	0	0	40	0	0	1	0	5	0	99	97	0
Clostridium clostridioforme	0	0	90	0	77	99	99	88	91	94	5	75	0	77	99	75	94	1	86	88	25	75	75	0
Clostridium difficile	0	0	99	80	0	0	0	20	5	0	44	30	0	5	66	83	0	5	1	5	0	98	99	0
Clostridium histolyticum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	90	0
Clostridium innocuum	0	0	99	99	0	46	0	99	5	15	1	45	1	99	99	4	1	0	0	25	0	99	99	0
Clostridium paraputrificum	0	0	99	0	99	92	99	99	0	0	0	99	0	99	99	0	7	7	0	21	0	99	99	1
Clostridium perfringens	0	0	99	2	95	95	99	1	0	0	99	4	54	4	99	0	16	10	0	76	1	84	99	0
Clostridium ramosum	1	0	99	80	99	99	99	99	0	0	0	40	0	99	99	0	60	0	57	94	0	92	75	0
Clostridium septicum	0	0	99	1	99	0	94	94	0	1	75	35	0	76	99	0	0	0	1	84	1	99	99	0
Clostridium sordellii	99	99	95	0	0	0	90	0	0	0	95	0	0	1	4	0	0	4	0	0	0	99	99	0
Clostridium spp	10	1	1	0	0	0	1	0	0	0	90	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0
Clostridium tertium	0	0	99	99	99	99	99	99	70	0	0	35	0	99	99	62	0	1	0	85	0	99	99	0
Collinsella aerofaciens	0	0	100	0	99	90	90	75	0	0	0	40	0	75	99	0	0	0	0	70	0	0	100	0
Eggerthella lenta	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	60	0	100	0
Eubacterium limosum	0	0	100	70	0	0	0	4	1	1	4	4	10	0	4	0	0	0	0	0	5	0	100	0
Fusobacterium mortiferum	0	0	99	0	0	70	15	75	5	0	5	25	25	25	75	0	75	0	0	23	3	0	0	0
Fuso.necrophorum/nucleatum	94	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Fusobacterium varium	70	0	81	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gemella morbillorum	0	0	100	8	5	90	100	8	0	0	0	5	0	5	100	0	5	5	0	20	0	0	100	99
Lactobacillus acidophilus/jensenii	0	0	99	3	80	99	96	99	1	0	3	75	8	99	99	5	15	5	3	90	0	0	100	0
Peptoniphilus asaccharolyticus	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	98	99
Peptostreptococcus group	0	5	5	0	1	0	1	1	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	94	100
Porphyromonas asaccharolytica	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
Prevotella bivia	1	0	99	1	99	0	99	1	1	1	50	0	80	0	99	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Prevotella intermedia/disiens	32	0	99	0	0	35	98	0	0	0	70	1	4	1	85	0	19	0	1	1	1	0	0	3
Prevotella melaninogenica/oralis	0	0	97	1	97	83	97	31	2	1	20	51	18	53	97	1	89	0	12	4	0	0	0	1
Propionibacterium acnes	67	0	97	20	1	5	0	0	0	0	69	0	97	0	97	0	0	10	0	1	89	0	100	1
Propionibacterium granulosum	0	0	99	41	0	82	31	0	0	1	18	0	99	0	98	25	35	0	4	67	79	0	100	0
Propioni.propionicum/avidum	0	0	92	50	50	73	80	0	2	5	40	0	45	0	50	2	75	0	1	30	30	0	82	0
Staphylococcus saccharolyticus	0	25	87	0	5	0	0	0	0	5	0	5	75	0	75	0	0	0	5	5	99	0	100	100
Streptococcus constellatus	0	0	100	0	22	100	100	100	0	0	0	22	0	33	100	0	0	0	0	66	0	0	100	100
Streptococcus intermedius	0	0	99	20	99	99	99	95	0	0	0	75	0	90	99	6	26	0	0	99	0	0	100	100
Veillonella parvula	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	50	0	1	100

BIBLIOGRAPHIE / LITERATURE REFERENCES / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA / ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ / REFERENSLITTERATUR / LITTERATURHENVISNINGER / PIŚMIENNICTWO

1. DRUGEON H., BILLAUDEL S., COURTIEU A.L
   Utilisation d'une microgalerie pour l'identification des bactéries anaérobies.
   (1977) Ann. Biol. Clin., 35, 409-414.
2. ESSERS L., HARALAMBIE E.
   Experiences with the API 20 A System in routine species identification of anaerobes.
   (1977) Zbl. Bakt. Hyg. Parasitenk-1, Abt-A, 238, 394-401.
3. MURRAY P.R., BARON E.J., JORGENSEN J.H., PFALLER M.A., YOLKEN R.H.
   Manual of Clinical Microbiology.
   8th Edition.
   (2003) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. NORD C.E., DAHLBACK A., WADSTROM T.
   Evaluation of a Test Kit for Identification of Anaerobic Bacteria.
   (1975) Med. Microbiol. Immunol., 161, 239-242.
5. STARR S.E., THOMPSON F.S., DOWELL V.R., BALOWS A.
   Micromethod System for Identification of Anaerobic Bacteria.
   (1973) Appl. Microbiol., 25, 713-717.

TABLE DES SYMBOLES / INDEX OF SYMBOLS / SYMBOLE / CUADRO DE SIMBOLOS / TABELLA DEI SIMBOLI / QUADRO DOS SÍMBOLOS / ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ / SYMBOLER / SYMBOLFORTEGNELSE / TABELA SYMBOLI

Symbole / Symbol / Simbolo / Símbolo / Σύμβολο	**Signification / Meaning / Bedeutung / Significado / Significato / Επεξήγηση / Betydelse / Betydning / Znaczenie**
REF / REF	Référence du catalogue Catalogue number (GB) / Catalog number (US) Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo Referência de catálogo / Αριθμός καταλόγου Artikelnummer / Katalognummer / Numer katalogowy
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Diagnostic Medical Device In Vitro Diagnostikum / Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Medicinsk utrustning för in vitro-diagnostik Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Fabricant / Manufacturer / Hersteller / Fabricante Fabbricante / Κατασκευαστής / Tillverkad av / Producent
	Limites de température / Temperature limitation Temperaturbegrenzung / Limite de temperatura Limiti di temperatura / Limites de temperatura Περιορισμοί θερμοκρασίας / Temperaturbegränsning Temperaturbegrænsning / Przechowywać w temperaturze
	Utiliser jusque / Use by / Verwendbar bis / Fecha de caducidad Utilizzare entro / Prazo de validade / Ημερομηνία λήξης Används före / Holdbar til / Zużyć do
LOT	Code du lot / Batch code / Chargenbezeichnung / Codigo de lote Codice del lotto / Código do lote / Αριθμός Παρτίδας / Batchnummer Lotnummer / Numer serii
	Consulter les instructions d'utilisation / Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte as instruções de utilização Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Se bruksanvisningarna Se brugsanvisning / Odnieś się do instrukcji użycia
	Contenu suffisant pour "n" tests / Contains sufficient for <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Conteúdo suficiente para “n” ensaios Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις Innehållet räcker till <n> tester Indeholder tilstrækkeligt til "n" undersøgelser Zawartość wystarczy do wykonania <n> oznaczeń

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Imprimé en / Printed in France

CE